

**HISTOLOGISCH-HISTOCHEMISCHE UND
MYOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DER
SKELETTMUSKULATUR BEIM GÖTTINGER
MINIATURSCHWEIN UND BEIM KANINCHEN IM VERGLEICH
ZUR MENSCHLICHEN SKELETTMUSKULATUR**

Manfred G. Thomma

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555616_0036

Aus der Neurologischen Klinik der Universität
München

Direktor: Prof. Dr. A. Schrader

Histologisch-histochemische und myometrische
Untersuchungen an der Skelettmuskulatur beim
Göttinger Miniaturschwein und beim Kaninchen
im Vergleich zur menschlichen Skelettmuskulatur.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin an der Ludwig Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Manfred G. Thomma

aus München

München 1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz.Dr.F.Láhoda

Mitberichterstatter: Prof.Dr.A.Schrader

Dekan: Prof.Dr.med.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 1. 12. 77

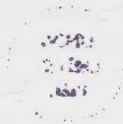


Meinem Schwiegervater Bruno Nowak

und

meinem Onkel Dr. jur. Alois Thomma

in Dankbarkeit gewidmet.



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I.	Einleitung	6
II.	Das Göttinger Miniaturschwein und das Kaninchen als Versuchstier in der humanmedizinischen Grundlagenforschung	10
III.	Enzymhistochemische Differenzierung der verschiedenen Muskelfasertypen	17
	1.) Allgemeine Darstellung	17
	2.) Enzymhistochemische Befunde beim Schwein und beim Kaninchen	22
	3.) Myometrische Quantifizierung	25
IV.	Problemstellung	27
V.	Material und Methodik	28
	1.) Kaninchen: Haltung, Gewicht-und Geschlechtsverteilung, Narkose	29
	2.) Göttinger Miniaturschwein: Herkunft Haltung, Gewicht, Alter, Narkose	31
	3.) Normaler menschlicher Skelettmuskel: Ausgewählte Normalgruppe von biopsierten Patienten aus unserer Klinik	34
	4.) Entnahmetechnik	37
	5.) Färbungen	39
	6.) Myometrische Auswertung	41
VI.	Ergebnisse	44
	1.) Histologisch-histochemische Befunde der Skelettmuskulatur des Kaninchens	44
	2.) Myometrische Analyse der Biceps-femoris Muskulatur des Kaninchens	44

	Seite
VI.	
3.) Histologisch-histochemische Befunde der Skelettmuskulatur des Göttinger Miniaturschweines	54
4.) Myometrische Analyse der Biceps-femoris-Muskulatur des Göttinger Miniaturschweines	58
5.) Histologisch-histochemische Befunde der Skelettmuskulatur des Menschen	67
6.) Myometrische Analyse der Muskulatur vom Menschen	67
VII.	
Diskussion	78
1.) Histologisch-histochemische Befunde	78
2.) Myometrische Analyse	79
VIII.	
Zusammenfassung	87
IX.	
Literatur	89

I. Einleitung

Experimentell induzierte Myopathien sind für das Verständnis der Pathogenese primärer und sekundärer Myopathien des Menschen von grundlegender Bedeutung.

Hereditäre Myopathieformen sind beim Hühnchen, beim Hamster, bei Enten, Schafen und bei bestimmten Mäusestämmen bekannt (50).

Neben diesen hereditären Myopathieformen erlangte die Vitamin-E-Mangelmyopathie größere Bedeutung als Modell dystrophischer Muskelerkrankungen. Kakulas (59) vertritt die Auffassung, daß die solchermäßen erzeugten Muskelläsionen den frühen Veränderungen der Duchennschen Muskeldystrophie sehr ähnlich sind.

Pharmakologisch induzierbar sind Erkrankungen der Skelettmuskulatur durch Chloroquin, 20, 25-Diazacholesterol, Vinchristin, 2,4-Dichlorphenoxyacetat und durch Corticosteroide, wobei den synthetischen fluor-substituierten Steroiden eine besondere Rolle hinsichtlich ihrer myotoxischen Wirkung zukommt.

Von den pharmakologisch induzierbaren Skelettmuskerkrankungen erlangte die Steroidmyopathie in der tierexperimentellen Forschung besondere Bedeutung, wegen der beim Menschen beobachteten Krankheiterscheinungen bei endo- und exogen bedingtem Hypercortizismus.

Seit den ersten Beobachtungen von Cushing (23) sind zu diesem Thema zahlreiche Publikationen erschienen. (2, 3, 5, 11, 17, 24, 25, 27, 33, 34, 35, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 54, 55, 58, 60, 61, 64, 65, 68, 70, 71, 72, 77, 78, 80, 81, 83, 86, 89, 91, 93, 95, 98, 99, 101)

Die Pathogenese der corticosteroidinduzierten Myopathien ist jedoch nach wie vor nicht völlig geklärt. Corticosteroidinduzierte Myopathien wurden bisher nahezu ausschließlich an Nagern, wie Kaninchen, Ratten, Mäusen und Meerschweinchen untersucht (s.Tabl.I). Lediglich Faludi et al. (37) berichten über Veränderungen der Hundemuskulatur unter Anwendung verschiedener synthetischer Steroidderivate (s.Tab.I).

Tabelle I

Tierexperimentelle Untersuchung zur corticoidinduzierten Myopathie

Kaninchen			Ratte		
1951	Germuth	(42)	1957	Leonard	(64)
1952	Kerppola	(61)	1963	Ryan et al.	(89)
1956	Ellis	(33,34,35)	1966	D'Agostino	(24)
1958	Glaser et al.	(43)	1966	Palmer	(77)
1964	Smith	(91)	1967	Tice et al.	(95)
1965	Awad et al.	(54)	1968	Bullock et al.	(17)
1966	D'Agostino et al.	(25)	1969	Goldberg et al.	(44)
1967	Ritter	(86)	1970	Peter et al.	(78)
1969	Afifi et al.	(3)	1971	Prabhu et al.	(83)
1969	Freund-Mölbart et al.	(39)	1971	Walsh et al.	(98)
			1972	Stern et al.	(93)
Maus			Hund		
1966	Faludi et al.	(38)	1964	Faludi et al.	(37)
1967	Mittelbach et al.	(68)			
1972	Gruener et al.	(45)			
1974	Wassermann	(99)			
Meerschweinchen					
1963	Janssen	(54)			
1963	Mussa G. et al.	(72)			

Experimentelle corticosteroidinduzierte Myopathien am Schwein sind uns bei gegenwärtigem Kenntnisstand der Literatur nicht bekannt.

Phylogenetisch und stoffwechselphysiologisch dem Menschen sehr nahestehend ist das Hausschwein als Versuchstier besonders gut geeignet.

In der Grundlagenforschung, aber auch für Fragen aus dem Bereich der Humanmedizin erlangte das Schwein als Laboratoriumstier zunehmend Bedeutung. In der Annahme, daß sich auch in der Muskelforschung das Schwein als besonders geeignet erweisen könnte, haben wir eine vom Institut für Haustiergenetik der Universität Göttingen gezüchteten Miniaturschweinerasse für unsere Untersuchungen gewählt.

Um morphologische Befunde experimenteller Myopathien bei Schweinen und Kaninchen mit myopathologischen Veränderungen beim Menschen vergleichen zu können, ist es zunächst erforderlich, von gesunden Kontrolltieren Normalparameter zu erstellen und diese mit der Skelettmuskulatur des Menschen zu vergleichen.

Dies ist Aufgabe der vorliegenden Arbeit.

II. Das Göttinger-Miniaturschwein (GMS) und das Kaninchen als Versuchstiere in der humanmedizinischen Grundlagenforschung

Die günstigen physiologischen und anatomischen Voraussetzungen veranlaßten viele Autoren, bei bestimmten Fragestellungen das Schwein als Versuchstier zu wählen, so zum Beispiel bei der Erforschung kardiovaskulärer Erkrankungen und der Arterioskleroseforschung, bei Problemen der Fortpflanzungsphysiologie und der Einwirkungen von Noxen auf das Integument, bei Fragen der Immunologie, der Gastroenterologie und der Toxizität radioaktiver Substanzen sowie auf dem Gebiet der experimentellen Chirurgie.

Lediglich die Größe und das beträchtliche Gewicht mit der darausfolgenden "Unhandlichkeit" als auch Futterkosten und der große Platzbedarf mit dem entsprechend hohen Haltungsaufwand erschweren die Einführung des Schweines als vielseitig verwendbares Versuchstier (8). Diese Nachteile wurden durch eine Züchtung von Miniaturschweinen durch das Institut für Tierzucht und Haustiergenetik der Universität Göttingen vermieden. Ausgangsbasis für die Zucht des Göttinger-Miniaturschweines (GMS) waren das Minnesota Miniature Pig, das vietnamesische Hängebauchschwein und das deutsche veredelte Landschwein. Das GMS ist somit ein aus zwergwüchsigen Rassen durch Selektion gezüchtetes Schwein geringerer Körpergröße. Es handelt sich demnach um eine genetisch fixierte Miniaturform des normal proportionierten Hausschweines und nicht um eine Kümmerform (8). Ausgewachsen erreichen die Tiere etwa halbe Größe und 10 - 25 % des Gewichts großer Hausschweine (103).

Die biologischen Parameter, welche bei den zahlreichen Hausschweinerassen erheblich voneinander abweichen, erlaubten beim Göttinger Miniaturschwein als spezifische Versuchsschweinerasse eine Ermittlung von Normalparametern und somit eine sehr gute Übertragbarkeit von Versuchsergebnissen.

Untersuchungen des Stoffwechsels sowie der Enzym- und Blutveränderungen bei unterschiedlichen experimentellen Belastungen bestätigen die hervorragende Eignung des Göttinger Miniaturschweines als Versuchstier.

Zu bemerken ist, daß verschiedene physiologische Größen denen des Menschen sehr ähneln, wie der nachfolgende tabellarische Vergleich einiger Basisdaten von Erythrozyten, Alkal. Phosphatase, SGOT, SGPT, CPK, Natrium, Kalium und Chlorid mit den beim Menschen gültigen Werten zeigen soll: siehe Tabellen II - IX.

II. Erythrozyten (mill/ml)

Göttinger Miniaturschwein

Tier- zahl	Durschnitts- wert	Autor
12	6,96	Kaemmerer (57)
12	8,9	Wiebe (100)
38	6,2	Unshelm (97)
13	5,5	Kierfeld et al. (62)
10	7 - 8	Seidenkranz (90)
8	5,2	Wrogemann (102)

Mensch

	Mittelwert	Autor (40)
♂	4,4 - 6,0	Geigy wissensch. Tabellen
♀	3,9 - 5,5	

III. Alkalische Phosphatase (mU/ml)

Göttinger Miniaturschwein

Tier- zahl	Durchschnitts- wert	Autor
13	165	Kierfeld et al. (62)

Mensch

An- zahl	Mittel- wert	95% Be- reich	Autor (40)
	10.-16. Jahr	100-275 Extrembe- reich	King, J.
73	102	61-171	Hausamen

IV. SGOT (mU/ml)

Göttinger Miniaturschwein

Tier- zahl	Durchschnitts- wert	Autor
8	34	Berg et al. (10)
13	17,8	Kierfeld et al. (62)
10	22,4	Seidenkranz (90)

Mensch

An- zahl	Mittel- wert	Extrem- bereich	Autor (40)
950	12,0	6,2-22,0	Lindner
100	13,6		Gautier et al.

V. SGPT (mU / ml)

Göttinger Miniaturschwein

Tier- zahl	Durchschnitts- wert	Autor
8	18,3	Berg et al. (10)
13	16,8	Kierfeld et al. (62)
10	16,5	Seidenkranz (90)

Mensch

An- zahl	Mittel- wert	Extrembe- reich	Autor (40)
54	7,7	2,4 - 16,8	Wroblewski
122	6,9	2,9 - 16,1	Schmid et al.

VI. CPK (IogmE/ml)

Göttinger Minaturschwein

Tier- zahl	Durchschnitts- wert	Autor / Methode
	100. 150. 190. Tag Tag Tag	Unshelm (97)
36	0,52 0,49 0,58	Testkombi- nation Boehninger

Mensch

An- zahl	Mittel- wert	Autor (40) Methode
254	0,40	Richterich UV-Test 37 %
257	0,30	Feissli et al. UV-Test Boehringer
30	0-0,48	Forster u. Escher UV-Test Boehringer

VII. Natrium (mval/l)

Göttinger Miniaturschwein

Tier- zahl	Durchschnitts- wert	Autor
15	143	Kierfeld et al. (63)
8	139	Wrogemann (102)

Mensch

An- zahl	Mittel- wert	95%-Be- reich	Autor (40)
20	144,5	138 - 151	Geigy wissen- schaftl. Tab.
37	143,1	136 - 151	
157	138	132 - 144	

VIII. Kalium (mval / l)

Göttinger Miniaturschwein

Mensch

Tier- zahl	Durchschnitts- wert	Autor
8	4,4	Berg et al. (10)
13	4,1	Kierfeld et al. (63)
8	4,3	Wrogemann (102)

An- zahl	Mittelwert	Autor (40)
157	4,30	Geigy wissenschaftl. Tabellen
37	4,05	
106	3,7	
22	4,4	

IX. Chlorid (mval / l)

Göttinger Minaturschwein

Mensch

Tier- zahl	Durchschnitts- wert	Autor
17	71,9	Wünsche u. Scheele (104)
8	103,7	Wrogemann (102)

An- zahl	Mittelwert	Autor (40)
100	102,7	Geigy wissenschaftl. Tabellen
157	106	

Für die Annahme, daß auch die Muskulatur des Schweines ein dem menschlichen Skelettmuskel ähnliches Muster und Verhalten aufweist, spricht zusätzlich ein Phänomen, das gleichermaßen bei Mensch und - meist beim stressempfindlichen - Schwein auftreten kann.

Wie berichtet wird, sind beim Menschen in einer Häufigkeit von 1 : 15 000 Narkosezwischenfälle in Form der sogenannten malignen Hyperthermie bekannt geworden, wobei ein autosomal dominanter Erbgang vermutet wird (12 , 13 , 56).

Ähnlich abnorme Reaktionen auf Anästhetika kommen bei Schweinen verschiedener Rassen vor. Nelson et al. (74) nehmen an, daß der primäre pathophysiologische Mechanismus in einem hypermetabolischen Zustand zu suchen ist, welcher sich vor allem in einer Skelettmuskelrigidität äußert.

Die Neigung, auf Narkotika wie z.B. Halothan, Chloroform und Cyclopropan in Form einer malignen Hyperthermie zu reagieren, scheint beim Schwein genetisch fixiert zu sein. Die ätiologischen Faktoren sind noch unbekannt; in vitro-Versuche mit Muskeln erkrankter Tiere weisen jedoch auf die Skelettmuskulatur als Zielgewebe hin. Auch licht- und elektronoptische Befunde zeigten eine pathologisch veränderte Muskulatur. Bei verschiedenen Tieren sah man eine " Superkontraktion " mit einer Verdichtung der longitudinalen Strukturen des sarcoplasmatischen Reticulums.

Nelson et al. nehmen einen ähnlichen , " wenn nicht identischen " pathophysiologischen Mechanismus bei der Entstehung der malignen Hyperthermie bei Mensch und Schwein an (74).

Über die Bedeutung des Miniaturschweines in der experimentellen biomedizinischen Grundlagenforschung haben u.a. folgende Autoren berichtet:

Abd El-Nabi, F.	(1)	Bähr, K.H. et al.	(6)
Beglinger et al.	(8)	Bentlage, G.E.	(9)
Busse, H.	(20)	Georgieva, R. et al.	(41)
Haring, F. et al.	(47, 48)	Hörr, H.-P.	(51)
Marshall, M. et al.	(66)		

Die Bedeutung des Kaninchens als vielseitig verwendbares Laboratoriumstier ist allgemein bekannt und bedingt durch relativ niedrige Anschaffungskosten, den geringen Haltungsaufwand, Futter-und Platzbedarf sowie seine Handlichkeit.

Auch in der Muskelforschung wurde das Kaninchen von vielen Autoren als Versuchstier geschätzt (3, 5, 25, 33, 34, 35, 39, 42, 43, 61, 79, 86, 91).

III. Enzymhistochemische Differenzierung der verschiedenen Muskelfasertypen

1.) Allgemeine Darstellung

Der Aufbau des Skelettmuskels aus zwei Fasertypen ist im Prinzip seit langem bekannt. Zunächst unterschied man rote von weißen Muskeln. Ranvier's (85) Entdeckung vor mehr als hundert Jahren, daß sich rote Muskeln im Vergleich zu weißen langsamer kontrahieren, führte in der Folge zu umfangreichen Untersuchungen. Bald erkannte man, daß sich die Muskeln aus unterschiedlichen Muskelfasern zusammensetzten, und daß die meisten Muskeln gemischt sowohl rote als auch weiße Muskelfasern enthalten (73), und somit die einzelnen Muskeln nur durch das Überwiegen einer der jeweiligen Fasertypen als " rot " oder " weiß " imponieren.

Die Differenzierung dieser unterschiedlichen Fasertypen bereitete jedoch mit herkömmlichen histologischen Techniken große Schwierigkeiten. Bullard (16) zeigte 1919 mittels Sudan-III-Färbung das Vorkommen von 3 aufgrund ihres Fettgehaltes unterschiedlich anfärbbaren Fasertypen.

Erst mit der Einführung histochemischer Methoden konnte eine sichere Differenzierung der beiden Hauptfasertypen I und II getroffen werden, und es wurde möglich, morphologische und in gewissem Maße auch biochemische Eigenschaften der verschiedenen Muskelfasern zu erfassen (73).

Dubowitz und Pearse (28) gelang es im Jahre 1960 an der Muskulatur von Mensch, Ratte und Taube nachzuweisen, daß sich die beiden Fasertypen im Gehalt verschiedener Enzyme reziprok verhalten.

Die Typ I-Faser ist reicher an in Mitochondrien lokalisierten oxidativen Enzymen (Succinatdehydrogenase (SDH), Nikotinamadenin dinucleotiddehydrogenase (NADH)), wogegen die Typ II-Faser einen höheren Gehalt an plasmatischer Enzymaktivität wie in der Phosphorylase- und myofibrillärer ATPase-Reaktion aufweist.

Wie sich in umfangreichen tierexperimentellen Untersuchungen zeigte (21, 31, 36, 88) konnte nachgewiesen werden, daß eine motorische Einheit jeweils nur Fasern eines Typs innerviert. Weiter zeigte sich in Nervendurchtrennungs- und Wiedervereinigungsexperimenten, daß sich die Fasertypen bei veränderter Innervation umstellen können, d.h., daß letztlich das Motoneuron den Fasertyp der von ihm versorgten Fasern bestimmt.

Bei der Darstellung verschiedener Enzyme fand man neben den beiden Hauptfasertypen eine dritte Fasergruppe, die im Ausfall der Reaktionsintensität eine Zwischenstellung einnimmt und als Intermediärfaser bezeichnet wurde.

Brooke & Kaiser (15) nutzen 1970 das unter veränderten methodischen Bedingungen abweichende Verhalten der ATPase zu einer Erweiterung der Typendifferenzierung aus.

Sie teilten die Typ II-Fasern in 3 Untergruppen auf, indem sie durch verschiedene, im sauren Bereich liegende Praeinkubationen stufenweise die Aktivität dieses Enzyms hemmten. Auf diese Weise unterschieden sie drei Subtypen. Gleichzeitig gelang es ihnen, die bis dahin als schwer zu klassifizierenden Intermediärfasern eindeutig als Untergruppe der Typ II-Fasern zu identifizieren.

Romanul (87) unterschied nach Untersuchungen der Rattenmuskulatur 1964 9 verschiedene Fasertypen (A - I).

Die in der Routinediagnostik eingeführte Methode zur Darstellung der myofibrillären ATPase erwies sich jedoch im Weiteren als sogenannte Standard-ATPase-Reaktion als geeignetste Form, die beiden Hauptfasertypen I und II zu unterscheiden, da damit die deutlichste und stabilste Differenzierung ermöglicht war.

Eine Differenzierung der Muskelfasern war bei verschiedenen Muskelerkrankungen mit Hilfe der ATPase Reaktion oft noch möglich, wenn andere Enzymreaktionen eine Unterscheidung der Fasertypen nicht mehr erlaubten, wie sich in späteren Untersuchungen herausstellte.

Demnach gelten für die Hauptfasertypen u.a.
folgende Kriterien:

Tabelle XI

<u>Typ I</u>	<u>Typ II</u>
rot	weiß
myoglobinreich	myoglobinarm
viele Mitochondrien	Glycogenreich
Neutralfett: reich	Neutralfett: arm
aerober Metabolismus:	anaerober Metabolismus:
Energiequelle: oxydativ	Energiequelle: Glycolyse
Krebszyklus	
tonische Funktion	phasische, schnell ein- setzende, intensive aber kurz dauernde Funktion
ATPase-Reaktion: schwach	ATPase-Reaktion: stark
Phosphorylasereaktion: schwach	Phosphorylasereaktion: stark
SDH u. NADH-Aktivität: hoch	NADH u. SDH-Reaktion: niedrig

Die uneinheitliche Nomenklatur (siehe auch Tabelle XII) und die vielerlei Möglichkeiten der histochemischen Differenzierung von Fasertypen haben nicht zuletzt zu einer gewissen Verwirrung geführt (18 , 79).

Tabelle XII

Synonyma für die differenzierbaren Muskelfasertypen
(nach Peter et al. (79))

Autor	Typ I	Typ II	Intermediär
Dubowitz, Pearse (28)	I	II	II
Engel (36)	I	II	II
Romanul (87)	III	I	II
Ashmore et al. (4)	β -red	α -white	α -red
Brooke u. Kaiser (15)	I	II B	II A
Peter et al. (79)	slow-twitch oxydative	fast-twitch glycolytic	fast-twitch oxydative- glycolytic
Burke et al. (19)	S	FF	FR
Stein u. Padykula(92)	B	A	C
Yellin u. Guth (105)	β	α	$\alpha\beta$

Wir unterscheiden nach der Einteilung von Engel entsprechend dem Verhalten in der ATPase-Reaktion Typ I- von Typ II-Fasern, wobei Typ I am ehesten den roten, Typ II den weißen Fasern entsprechen (18).

Die Intermediärfasern als Untergruppe der Typ II-Fasern wurden bei unserer myometrischen Analyse nicht gesondert berücksichtigt.

2. Enzymhistochemische Befunde beim Schwein und beim Kaninchen

Eine Studie zur histochemischen Differenzierung der weißen und roten Muskelfaser des Schweines veröffentlichten Moody und Cassens (69) 1968 über die Longissimus-dorsi- und Trapezius- Muskulatur. Dabei fanden sie, wie zu erwarten war, im M.trapezius eine größere Zahl roter Fasern als im M.longissimus. Wiederum wurde das reziproke Verhalten der beiden Fasertypen anhand verschiedener Enzymdarstellungen bestätigt.

1969 stellten Edgerton et al. (30) Untersuchungen an der Intermediärfaser von Ratten und Guineaschweinen an, und kamen dabei zu dem Ergebnis, daß sich " rote " Fasern auf Basis der Myosin-ATPase-Reaktion nicht von " weißen " unterscheiden ließen.

Vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Tierspezies wie Hühnchen, Maus, Rind und Schwein folgten 1971 von Ashmore und Doerr (4), wobei sie - allerdings unter Verwendung einer anderen Nomenklatur - nämlich α -red für Intermediär, α -white für Typ II- und β -red für Typ I-Fasern - die Enzymaktivitäten der verschiedenen Spezies aufzeigten (siehe Tab. XII).

Im Gegensatz zu Edgerton ergaben sich am Schwein deutliche Unterscheidungsmerkmale anhand der myofibrillären ATPase-Reaktion bei einer alkalischen Vorinkubation von pH 10,4.

Danach findet sich in Typ II-Fasern eine sehr hohe, in Intermediärfasern eine deutliche und in Typ I-Fasern eine geringe ATPase-Aktivität.

Dieselben Verhältnisse bezüglich der ATPase-Aktivität finden die Autoren beim Hühnchen und Rind, im Gegensatz zur Maus, wo sich besonders bei -red, also den Intermediärfasern, die höchste ATPase-Aktivität zeigte.

Ashmore und Doerr (4) bestätigten bei ihren Untersuchungen an der Schweinemuskulatur die Befunde von Cooper et al.(22). Demnach zeigen Typ-I-Fasern eine intensivere SDH-Aktivität als Intermediärfasern. Gleichzeitig fanden sie in der ATPase-Reaktion bei einer Vorinkubation mit einem pH von 10,4 eine gleichmäßig intensive Reaktion der Typ II- und Intermediärfasern, wie oben erwähnt.

Alle Typ II-Fasern zeigen eine intensive Phosphorylaseaktivität, während Typ I-Fasern eine sehr niedrige Phosphorylaseaktivität aufweisen. Die Intermediärfasern haben eine mittlere Aktivität bezüglich der Phosphorylasereaktion. Auffallend war, daß die Intermediärfasern mehr Glycogen enthalten als die Typ II-Fasern, wie die PAS-Reaktion zeigte (4). Auf eine besondere Bedeutung der oxydativen Phosphorylierung im Muskelstoffwechsel weist Eikelenboom (32) bei Tieren, die stressempfindlich sind, hin. Er konnte zeigen, daß stressempfindliche Tiere eine verminderte Kapazität des Phosphorylasesystems aufweisen.

Unter Einführung einer weiteren Nomenklatur, nämlich slow-twitch oxidative für Typ I, fast-twitch glycolytic für Typ II und fast-twitch-oxidative-glycolytic für Intermediärfasern (s.Tab.XI) untersuchten Peter et al. (79) die Muskulatur von Guineaschweinen und Kaninchen.

Dabei wurden vom Schwein die Soleus- und der weiße und rote Anteil der Vastusmuskulatur sowie vom Kaninchen ebenfalls der M. Soleus und der M. Semimembranosus histochemisch analysiert.

In Typ I-Fasern fanden sich dabei eine niedrige, in Typ II-Fasern eine hohe und in Intermediärfasern eine mittlere ATPase-Aktivität, was die Befunde von Ashmore et al. (4) bestätigt.

Die Phosphorylase-Aktivität finden die Autoren jedoch in Typ II- und Intermediärfasern hoch, in Typ I-Fasern, wie zu erwarten, dagegen niedrig.

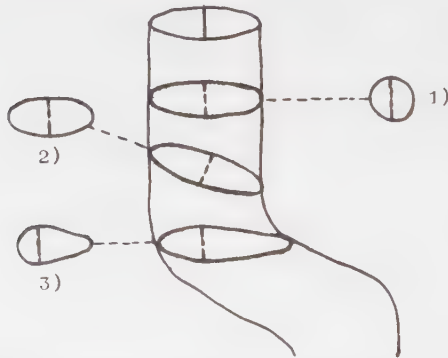
Über weitere Befunde an der Kaninchenmuskulatur sei auf Tabelle I und die dort genannten Autoren verwiesen.

3. Myometrische Quantifizierung

Zur quantitativen Ermittlung der Fasergrößen sowie Verteilung der Fasertypen wurden myometrische Methoden entwickelt.

Brooke und Engel (14) messen dabei aus noch dazulegenden Gründen den Faserdurchmesser, während Bundschu, Suchenwirth (18 , 94) und Pongratz (82) planimetrisch die Fläche der Fasern bestimmten. Letzteres setzt voraus, daß die Fasern exakt im orthograd getroffenen Querschnitt dargestellt werden, wobei weiterhin vorauszusetzen ist, daß die Fasern in ihrem Längsverlauf nicht von ihrem geraden Idealverlauf abweichen, also keine Biegung bzw. Schlingelung der Muskelfaser auftritt.

Abb. 1 (nach Dubowitz und Brooke) (29)



Zur Ermittlung des wahren Durchmessers. Auswirkung eines schrägen Schnittes (2) und einer Knickbildung im Muskelfaserverlauf (3) auf Fläche und Umfang im Schnittbild.

1 = Idealschnitt

Wie aus Abb. 1 ersichtlich, ergeben sich bei nicht orthograd getroffenen Fasern erhebliche Umfangs- und Flächen-differenzen. Histogramme, die planimetrisch erstellt werden, können daher große Flächenunterschiede bei gleichen Muskelfaserdurchmessern aufweisen.

Dubowitz und Brooke (29) schlagen daher vor, den kleineren der zwei größten senkrecht zueinander stehenden Faserdurchmesser zu wählen. (siehe Abb. 2) Wie aus Abb. 1 ersichtlich, ergeben sich mit dieser Methode auch bei nicht genau orthograd getroffenen Querschnitten und bei Schlängelungen verschiedener Fasern ausreichend genaue Durchmesserwerte.

Als Färbemethode der Wahl hat sich hierfür in den letzten Jahren die ATPase-Reaktion nach Padykula und Hermann (76) am besten bewährt.

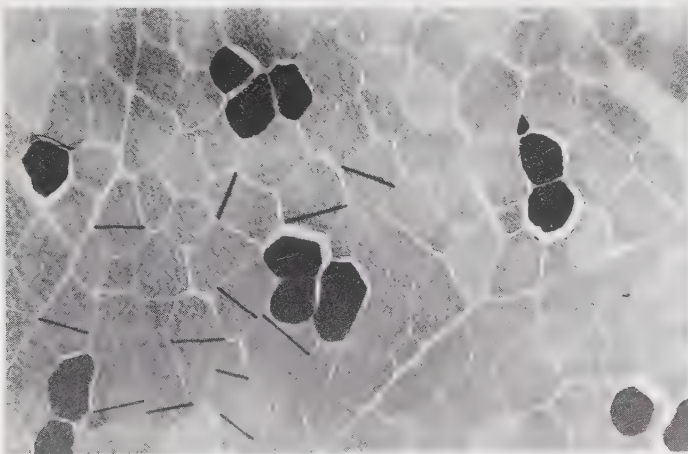


Abb. 2 Zur Ermittlung des Faserdurchmessers.

Göttinger Miniaturschwein (Biopsie-Nr. 6)
M. biceps femoris; Darstellung der ATPase-Reaktion bei
pH 4,63; Vergrößerung ca. 150-fach.

IV. Problemstellung

Wie erwähnt, sind die pathophysiologischen Vorgänge der corticosteroidinduzierten Myoptahie nach wie vor nicht geklärt.

In der Diskussion stehen Störungen des Elektrolythaushalts, des Eiweiß- und Glycogenmetabolismus. Die bisher erhobenen tierexperimentellen, zum Teil widersprüchlichen Befunde lassen viele Fragen offen. (2, 3, 37, 38, 49, 54, 61, 68, 70, 80, 84).

Das Schwein als phylogenetisch und stoffwechselphysiologisch dem Menschen besonders nahestehendes Versuchstier bietet sich für weiterführende experimentelle Untersuchungen als vielseitig verwendbares Laboratoriumstier an.

Experimentelle corticosteroidinduzierte Myopathien am Schwein sind uns nicht bekannt.

Die wenigen vorwiegend aus der veterinärmedizinischen Forschung stammenden enzymhistologischen Untersuchungen an der Schweinemuskulatur lassen vermuten, daß sich die Muskulatur des Schweines enzymhistologisch ähnlich wie die des Menschen verhält. Eine vergleichende histologisch-histochemische Untersuchung und myometrische Auswertung der Muskulatur von Mensch, Miniaturschwein und Kaninchen, dessen Muskulatur, wie aus Tab. 1 zu ersehen ist, am häufigsten hinsichtlich der Steroidmyopathie studiert wurde, ist als Grundlage für weitere Untersuchungen erforderlich.

V. Material und Methodik

Untersucht wurde der M. biceps femoris von Kaninchen und Göttinger Miniaturschwein, als Vertreter eines Muskels der hinteren proximalen Beinmuskulatur. Dieser Muskel ist am lebenden Tier als relativ oberflächlicher, lateral gelegener Muskel gut aufzufinden und durch den Faserverlauf sicher zu identifizieren (75).

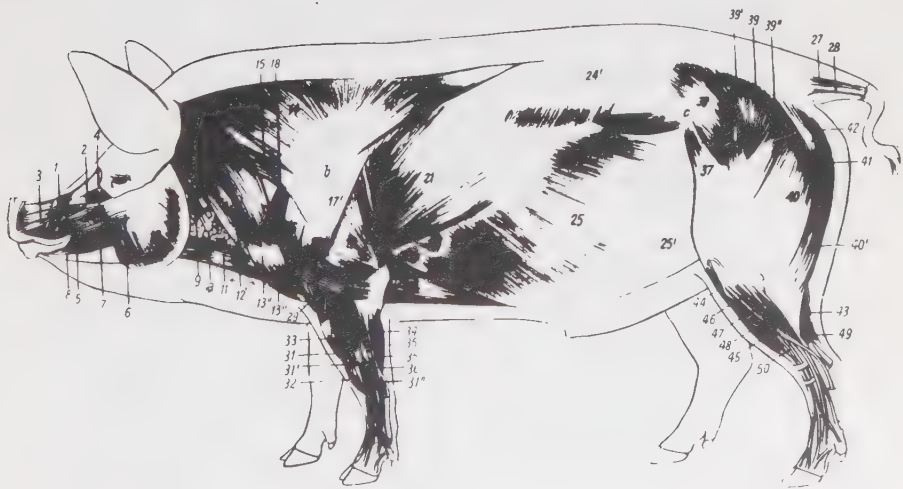


Abb. 3 Zur Anatomie der oberflächlichen Muskulatur des Schweines. 39 = tiefe Portion, 39' kranialer, 39'' kaudaler Teil der oberflächlichen Portion des M.glutaeus supf. 40 kraniale, 40' kaudale Portion des M.biceps femoris. (Aus Nickel, Schummer, Seiferle (75).

Im Hinblick auf die weiterführenden tierexperimentellen Untersuchungen ist es von besonderem Interesse, einen Typ II-faserreichen, proximal gelegenen Muskel der hinteren Extremitäten

tät zu wählen, da die myotoxische Wirkung der Corticoide eine besondere Affinität zu dieser Muskelgruppe zu haben scheint.

Besonderen Wert legten wir darauf, das Muskelgewebe zu entnehmen, ohne die Tiere töten zu müssen, und unter möglichst gleichen Bedingungen zu biopsieren, wie dies beim Menschen geschieht. Bei Versuchstieren ist dies nur in Vollnarkose durchführbar.

Ein Vorteil dieser Methode liegt darin, daß wiederholte Biopsien durchgeführt werden können und dadurch Verlaufskontrollen (z.B. nach Corticoidbelastung) möglich sind.

1.) Herkunft, Haltung, Gewichts- und Geschlechtsverteilung sowie Narkose beim Kaninchen

Die Untersuchungen bei den Kaninchen wurden an zehn gesunden rassenlosen Tieren, davon fünf weiblichen, durchgeführt.

Die Tiere geliefert von der Firma Hörl, Günzenhausen wurden in Einzelboxen mit Gitterrosteinsätzen und automatischer Tränke gehalten und mit Trockenfutter ad libitum ernährt. Das Alter der Kaninchen (K) I bis V lag bei etwa einem Jahr, mit einem Gewicht von 4,0 bis 6,5 kg. Die zweite Gruppe, mit den Tieren K VI bis K X, waren am Tag der Biopsie etwa neun Monate alt und wiesen ein Durchschnittsgewicht von ca. 3,6 kg auf.

Die Gewebeentnahme erfolgte in Allgemeinnarkose, wobei den Tieren Rompun[®] 0,2 bis 0,3 ml/kg und Ketanest[®] 40 mg/kg in der Mischspritze subcutan injiziert wurde. Nach fünf bis sieben Minuten lagen die Tiere in ausreichend tiefer Narkose. Nach Entfernung der Haare und Hautdesinfektion mit Kutasept[®] wurde die Biopsie unter sterilen Kautelen durchgeführt.

Die Biopsie erfolgte aus der rechten hinteren proximalen Extremitätenmuskulatur, wobei ein bis zwei Gewebeproben entnommen wurden.

Nach üblicher Wundversorgung mit Hautnähten wurden am achten Tag die Fäden entfernt. Dabei fanden wir bei sieben Tieren Primärheilungen. Lediglich bei den Tieren K IV, einem trächtigen Weibchen, K VI und K VIII heilten die Wunden per secundam Intentionem.

Rompun[®] : Bayer, Leverkusen

Ketanest[®] : Parke Davis, München

2.) Herkunft, Haltung, Alters-und Geschlechtsverteilung
sowie Narkose beim Göttinger-Miniaturschwein (GMS)

Die Tiere stammen aus dem Versuchsgut Rellichausen der Universität Göttingen.

Jedes Schwein ist durch eine Kerbmarkierung am Ohr gekennzeichnet und so leicht und sicher zu identifizieren.

Die Haltung erfolgte in einem gut belüfteten Raum in Boxen von 2,30 x 1,20 x 0,7 m auf Gitterrosten.

Jede Box ist mit einer automatischen Tränke ausgestattet. Pro Käfig können bis zu vier Schweine untergebracht werden.



Abb. 4 Göttinger Miniaturschwein
Zum Vergleich: Stallhöhe 70 cm

Aus betrieblichen Gründen wird keine Einstreu gegeben. Die Ställe werden täglich gereinigt und zweimal pro Woche desinfiziert. Der Zutritt zu den Stallungen ist nur einem eng begrenzten Personenkreis gestattet, um die Tiere nicht unnötig zu belasten.

Zur Ernährung erhielten die Tiere portioniert etwa 1 kg/Tag HERILAN-Pig, ein Trockenfutter für die Haltung ausgewachsener Miniaturschweine, und Wasser ad libitum. Wegen unerwünschten Fettansatzes einiger Tiere wurde einmal wöchentlich ein Fastentag eingeschaltet.

Untersucht wurde die hintere proximale Beinmuskulatur (M.biceps femoris; s.Abb. 3) von zehn Schweinen, davon vier weiblichen Tieren.

Am Tag der Gewebsentnahme lag das Alter der Tiere zwischen sieben und zehn Monaten bei einem Gewicht zwischen 40 und 60 kg.

Zwei Tiere, S VIII und S IX, mußten zweimal biopsiert werden, da das entnommene Material des ersten Eingriffs aus technischen Gründen verdarb und nicht ausgewertet werden konnte. Da die Biopsien durchnummeriert wurden, ergibt sich bei der Kennzeichnung eine Verschiebung. So hat z.B. das zehnte Tier die Biopsie-Nr. 12.

Zur Narkose verwendeten wir den Erfahrungen vieler Autoren folgend Azaperon (Stresnil[®]) und Metomidat (Hypnodil[®]) als Kombinationsanästhetikum.(7, 26, 46, 52, 53, 67).

Dazu wurden die Tiere vor dem Eingriff etwa 18 Stunden nüchtern gehalten. Wir injizierten zunächst in die Nackenmuskulatur 2 - 3 mg/kg Azaperon. Nach 10 - 20 Minuten - bei einzelnen Tieren konnte in dieser Phase eine Hyper-salivation beobachtet werden - waren die Tiere derart sediert, daß sie sich meist spontan hinlegten.

Nach dieser Prämedikation wurde den Tieren 10 mg/kg Metomidat(Hypnodil[®]) interperitoneal verabreicht, wozu dicke, kurzgeschliffene und ausreichend lange Kanülen verwendet wurden.

HERILAN-pig: H.Eggersmann KG, Rinteln/Weser

Stresnil[®]: Janssen, Düsseldorf

Hypnodil[®]: Janssen, Düsseldorf

Nach 10 bis spätestens 15 Minuten war eine ausreichende Narkosetiefe erreicht, so daß die Tiere nach vorausgehender Rasur ohne Fixierung auf den Operationstisch gelegt werden konnten.

Narkosezwischenfälle kamen bei keinem der von uns biopsierten Tiere zur Beobachtung. Lediglich in der Aufwachphase trat bei etwa 75% der Miniaturschweine ein Tremor aller Extremitäten auf.

Sämtliche Tiere waren zwei bis drei Stunden nach dem Eingriff wohlauf und unauffällig.

Nach Rasur und Desinfektion wurden den Tieren unter sterilen Kautelen nach Hautschnitt und Präparation ein bis drei ca. 1 x 2 cm große Gewebestückchen aus der rechten Bicepsmuskulatur der hinteren Extremität entnommen (s. Kapitel Entnahmetechnik).

Bei den beiden Tieren, bei denen ein zweiter Eingriff durchgeführt wurde, entnahmen wir das Material auf der kontralateralen Seite.

Acht bis zehn Tage nach der Biopsie wurden die Fäden entfernt. Dazu wurden die Tiere S IV bis SXII mit einer geringen Dosis Stresnil⁰ i.m. sediert, was den Zugang und die Manipulation am Tier erheblich erleichterte. Lediglich bei einem Schwein (S III) kam es zur Bildung eines Abszesses, welcher mit einem Scherenschlag gespalten werden mußte.

Die Wundverhältnisse aller anderen Schweine waren reizlos und heilten komplikationslos per primam Intentionem.

3.) Normaler menschlicher Skelettmuskel;

Ausgewählte Normalgruppe von biopsierten Patienten aus unserer Klinik

Die ausgewerteten Biopsien menschlicher Skelettmuskulatur stammen aus dem Muskellabor unserer Klinik. Da Muskelbiopsien nur aus diagnostischen Gründen durchgeführt, und Biopsien an freiwilligen Versuchspersonen nicht herangezogen werden, sind die zur Verfügung stehenden Normalfälle beschränkt und entsprechen nicht einer gesunden Durchschnittspopulation.

In der Regel werden beim Menschen Muskelbiopsien aus großen Extremitätenmuskeln entnommen. Da beim Menschen leicht zugängliche Muskulatur zur Diagnostik herangezogen werden muß, und der M.biceps femoris in der Regel nicht oder nur in Ausnahmefällen biopsiert wird, müssen wir uns bei der Auswertung der Biopsien vom Menschen auf die uns zur Verfügung stehenden Fälle beschränken:

Kasuistik

1. Biopsie-Nr. 37

Patient H.C., weiblich, 26 Jahre

klinische Diagnose: Entzündliche Rückenmarkserkrankung
V.a. Enzephalomyelitis disseminata.

EMG-Befund: Unauffälliges EMG und ENG

Biopsierter Muskel: M. quadriceps femoris

Morphologischer Befund: Normaler Skelettmuskel

2. Biopsie-Nr. 61

Patient R.M., männlich, 52 Jahre

klinische Diagnose: Arterio-venöses Angiom rechts frontal

EMG-Befund: altersentsprechend

Biopsierter Muskel: M. quadriceps femoris rechts

Morphologischer Befund: Normaler Skelettmuskel

5. Biopsie-Nr. 73

Patient R.H., männlich, 41 Jahre

klinische Diagnose: Hemiparese links, V.a. entzündlichen
Gefäßprozeß

EMG-Befund: fehlt

Biopsierter Muskel: M.biceps brachii rechts

Morphologischer Befund: myopathologisch unspezifischer Befund; kein Hinweis für eine Panarteriitis

4. Biopsie-Nr. 86

Patient J.C., weiblich, 17 Jahre

klinische Diagnose: A.basilaris-Verschluß, V.a. Kollagenose

EMG-Befund: Interferenzkurve mit frühzeitiger Rekrutierung; im M.deltoideus und tibialis anterior links myopathieverdächtiger Befund

Biopsierter Muskel: M.tibialis anterior links

Morphologischer Befund: Normaler Skelettmuskel; kein positiver Hinweis für das Vorliegen eines entzündlichen Gefäßprozesses.

5. Biopsie-Nr. 91

Patient M.A., weiblich, 39 Jahre

klinische Diagnose: V.a. auf generalisierten Gefäßprozeß

EMG-Befund: Unauffälliges EMG und ENG

Biopsierter Muskel: M.quadriceps femoris rechts

Morpholog.Befund: Normaler Skelettmuskel; Gefäße unauffällig

6. Biopsie-Nr. 92

Patient B.C., weiblich, 23 Jahre

klinische Diagnose: A.cerebri anterior-und A. cerebri media-Infarkt; V.a. generalisierten entzündlichen Gefäßprozeß

EMG-Befund: fehlt

Biopsierter Muskel: M.quadriceps femoris rechts

Morpholog.Befund: sehr diskrete diagnostische unspezifische myopathologische Veränderungen, kein Nachweis für entzündlichen Gefäßprozeß

7. Biopsie-Nr. 98

Patient K.H., männlich, 69 Jahre

klinische Diagnose: V.a. generalisierten Gefäßprozeß

EMG-Befund: fehlt

Biopsierter Muskel: M.quadriceps femoris rechts

Morpholog.Befund: diskrete, diagnostisch unspezifische
myopathologische Veränderungen

8. Biopsie-Nr. 99

Patient F.G., männlich, 46 Jahre

klinische Diagnose: V.a. entzündlichen Gefäßprozeß

EMG-Befund: . fehlt

Biopsierter Muskel: M.quadriceps femoris re.

Morpholog.Befund: diskrete diagnostische unspezifische
myopathologische Veränderungen

9. Biopsie-Nr. 109

Patient K.H., männlich, 26 Jahre

klinische Diagnose: Morbus Addison; Paraspastik ungeklärter
Ursache

EMG-Befund: Verdächtig auf distal-und beinbetonte
Polyneuropathie.

Biopsierter Muskel: M.quadriceps femoris links

Morpholog.Befund: Normaler Skelettmuskel

10. Biopsie-Nr. 112

Patient E. I., weiblich, 38 Jahre

klinische Diagnose: V.a. endokrine Myopathie

EMG-Befund: fehlt

Biopsierter Muskel: M.quadriceps femoris rechts

Morpholog.Befund: Normaler Skelettmuskel

4. Technik der Muskelbiopsie und Verarbeitung des Materials (56)

Abgesehen von den unterschiedlichen Anästhesiearten wurden beim Menschen und bei den beiden Versuchstierspezies das Muskelgewebsstück unter denselben Bedingungen und mit gleicher Technik entnommen und verarbeitet, weshalb nach kurzer Beschreibung des Anästhesieverfahrens beim Menschen das weitere Vorgehen bei der Entnahme und Weiterverarbeitung des Biopsiematerials zusammengefaßt dargestellt werden kann. Das vom Menschen stammende Material wurde ausnahmslos in Lokalanästhesie entnommen. Hierbei wurde streng darauf geachtet, daß das Anästhetikum nur in Haut und Subcutangewebe injiziert wurde und nicht in den Muskel gelangte. Nach Rasur, Reinigung und Desinfektion der entsprechenden Hautareale wurde ein ausreichend großer Hautschnitt parallel zum Muskelfaserverlauf angelegt. Nach Präparation und Inzision der Fascie wurde ein Muskelfaserbündel von ca. 0,5 cm Durchmesser und 2 cm Länge dargestellt und mit zwei Ligaturen im Abstand von 1,5 cm fixiert. Dabei wurde besonders darauf geachtet, daß das Gewebe nicht durch Druck oder Zug mechanisch beschädigt wurde.

Nach Excision erfolgte Wundversorgung mit Hautnähten und Kompressionsverband.

Die Weiterverarbeitung des Gewebestücks erfolgte in Gefrierschnittechnik. Das Muskelstück wurde hierzu sofort nach Entnahme mittels 5%igem TRAGACANTH auf ein Korkplättchen aufgebracht, wobei die Muskelfasern in ihrer Längsrichtung exakt senkrecht zum Korkplättchen ausgerichtet wurden. Danach wurde das Präparat in vorgekühltes Isopentan, welches hierzu vorher ausreichend lange in einem Becherglas in flüssigem Stickstoff getaucht wurde, eingebracht.

Nach etwa zwei Minuten ist das Präparat tiefgefroren, so daß es in einer Tiefkühltruhe bei -70°C aufbewahrt werden kann.

Im Cryostat wurden bei -20°C μm dicke Schnitte angefertigt.

An den unfixierten Präparaten wurden anschließend die histologischen Färbungen und enzymhistochemischen Nachweise durchgeführt.

5. Färbungen

Folgende histologische und histochemische Färbungen und Reaktionen wurden durchgeführt.

- a) Hämatoxylin-Eosin: dabei stellen sich die **Muskelfasern** rot, das Bindegewebe rosa und die Zellkerne dunkelblau dar. Im Längsschnitt kommt die Querstreifung der Fasern gut zur Darstellung.
- b) Gomori-Trichrom: Die Muskelfasern sind grün-blau, das Bindegewebe hellgrün und die Zellkerne rot-violett gefärbt.
- c) PAS-Reaktion (Periodic-Acid-Schiff):
Glycogen, Muco-und Polyssaccharide färben sich hierbei rot.
- d) Sudan-Fettfärbung: Es kommt zu einer guten Darstellung von intra-und extrazellulärem Fett, welches leuchtend rot erscheint. Anhand des unterschiedlichen Fettgehaltes sind die neutralfettreichen Typ-I-Fasern von den Typ-II-Fasern abgrenzbar. Intermediärfasern weisen einen geringeren Fettgehalt als Typ-I-Fasern auf.
- e) Saure Phosphatase: Diese Methode eignet sich für die Darstellung lysosomaler Enzyme und dient zum Nachweis von degenerativen **Faserveränderungen**.

- f) NADH-Reaktion: Mit dieser Reaktion gelingt eine gute Darstellung oxydativer Enzyme und der histochemische Nachweis von Mitochondrien und damit die Unterscheidung der verschiedenen Muskelfasertypen.

Typ-I-Fasern stellen sich intensiv dunkelblau dar, während Typ-II-Fasern als blass imponieren. Intermediärfasern werden deutlich weniger intensiv gefärbt.

- g) Phosphorylase: Mit dieser Reaktion wird ein sarkoplasmatisches Enzym dargestellt, welches am Abbau von Glycogen durch Spaltung 1,4-glycosidischer Bindungen beteiligt ist.

Typ-II-Fasern reagieren intensiv, Typ-I-Fasern schwach. Die Intermediär-Fasern nehmen eine Mittelstellung ein. Typ-II-Fasern imponieren als dunkelgrau-blau, Typ-I-Fasern hellbraun.

- h) myofibrilläre ATPase nach Padykula und Hermann (76):

Mit dieser Reaktion können die verschiedenen Muskelfasertypen I und II besonders gut differenziert werden. Die Präparate werden mit ATP und Calcium bei einem pH von 9,4 inkubiert. Über Abspaltung eines Phosphates vom ATP, welches sich mit Calcium zu einem im alkalischen Bereich unlöslichen Calcium-Phosphat verbindet, kommt es mittels Kobalddichlorid und Ammoniumsulfid zur Bildung eines schwarz-braun erscheinenden Kobalddisulfids.

Die myofibrilläre ATPase-Aktivität ist bei alkalischer Vorinkubation in Typ-II-Fasern sehr hoch. Typ-I-Fasern zeigen keine bzw. nur eine sehr geringe Aktivität. Bei einem pH im sauren Bereich kann die Reaktion stufenweise gehemmt werden und die Reaktionsintensitäten erweisen sich als umgekehrt (Brooke und Kaiser (15)).

Serienschnitte erlauben eine vergleichende Beurteilung identischer Fasern in den verschiedenen Färbereaktionen

6.) Myometrische Auswertung

Wie schon erwähnt (siehe S. 25 und Abb. 1 und 2) wurde bei der quantitativen Analyse nach den von Brooke, Engel und Dubowitz angegebenen Verfahren vorgegangen (14 , 29). Demnach galt als Durchmesser der kleinere von den zwei größten senkrecht zueinander stehenden Durchmessern.

Von jedem Präparat wurde eine Differenzierung der beiden Hauptfasertypen I und II anhand der myofibrillären ATPase getroffen.

Die von den Kaninchen stammenden Präparate waren zum großen Teil bei pH 9,4 so stark artefaktgestört, daß eine einwandfreie myometrische Auswertung nicht möglich gewesen wäre. Daher verwendeten wir für die myometrische Auswertung die ATPase-Färbung bei pH 4,63 (mit reziproker Färbung), welche frei von färberischen Artefakten war.

Für die Messungen wurden zufällig ausgewählte repräsentative Schnittareale photographiert und 300fach vergrößert.

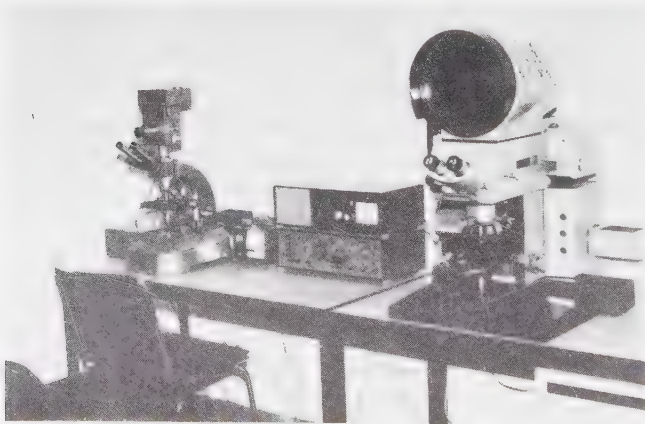


Abb. 5 Photomikroskop

Unter Verwendung eines MOP-Bildanalyse-Gerätes (Abb. 6) wurde von allen Fasern, getrennt nach Typ I und II, der Faserquerschnitt wie oben beschrieben ermittelt, wobei Randfasern bei der Messung nicht berücksichtigt wurden. Mit dem MOP-Analyse-Gerät kann neben der Anzahl der Fasern und der Summe der gemessenen Durchmesser eine Klassifizierung der Fasergrößen in einem Bereich von 1 bis 45 μm in einem Arbeitsgang ermittelt werden.

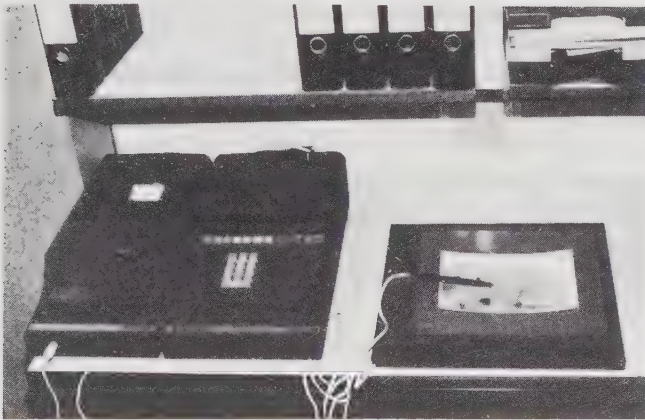


Abb. 6 MOP - Bildanalyse-Gerät

Nach diesem Verfahren werden pro Präparat etwa 500 Fasern ausgezählt.

Die ermittelten Rohdaten (Summe der Durchmesser, Größenklassierung, Faseranzahl usw.) wurden im HP-Rechner (Hewlett - Packard, Modell 9830 A) des Institutes für Medizinische Informationsverarbeitung, Statistik und Biomathematik (ISB) ausgewertet.

Dieser Computerauswertung lag ein Programm zugrunde, welches von Herrn Dr. Schewe vom ISB und von Herrn Dr. K. Boxler von der Neurologischen Klinik speziell für die Histometrie am Muskelgewebe erstellt worden war.

Für jede Biopsie wurden folgende Daten bestimmt: Anzahl der gemessenen Fasern, Prozentzahl der Typ-I und II-Fasern, mittlerer Durchmesser ($\bar{X}$) und Standardabweichung (SD) für die einzelnen Fasertypen.

Die für jede Biopsie ermittelten Daten wurden vom Computer gleichzeitig in einer graphischen Darstellung ausgedruckt.

Ausgehend von den Einzelhistogrammen wurden zusammenfassende Megahistogramme getrennt nach Geschlecht und Spezies erstellt.

VI. Ergebnisse

1.) Histologisch-histochemische Befunde der Skelettmuskulatur des Kaninchens

Die histologisch-histochemische Untersuchung der Skelettmuskulatur des Kaninchens (M.biceps femoris) ergab normal dicht gelagerte Muskelfasern von rundlichem bis polygonalem Querschnitt, subsarcolemmal gelegene Kerne, keine degenerative oder regenerative Veränderungen und keine entzündlichen Infiltrate.

Die mitang geschnittenen Gefäße und Nervenfasern, sowie das Bindegewebe waren unauffällig.

Alle enzymhistochemischen Nachweise ergaben eine normale Darstellung der einzelnen Fasertypen. Bei allen Tieren fanden sich in der Biceps-femoris-Muskulatur nur einzeln gelagerte Typ-I-Fasern; bei zwei Kaninchen (K 3 und K 5) fanden sich keine Typ-I-Fasern.

In Serienschnitten der einzelnen histochemischen Färbungen konnten die regellos verteilten Intermediärfasern deutlich von Typ-II-Fasern abgegrenzt werden. Die mitangefertigten Längsschnitte zeigten in der HE-Färbung eine normale Querstreifung.

2.) Myometrische Analyse der Biceps-femoris-Muskulatur des Kaninchens

Die Abbildungen sieben mit 16 zeigen für beide Fasertypen die Verteilung der Fasergrößen, klassiert in Gruppen von 10 μm , wobei diese gegen die Abszisse und die Anzahl der Fasern gegen die Ordinate aufgetragen sind. Prozentanteil und mittlerer Faserdurchmesser mit Standardabweichung werden in den Graphiken angegeben.

Der Anteil der Typ-I-Fasern variiert zwischen null und 4,2%. Das Spektrum der Faserdurchmesser reicht bei Typ-I-Fasern von 10 bis 70 μm mit einem durchschnittlichen Faserdurchmesser ($\bar{X}$) von 23,1 bis 55,8 μm .

Bei den Typ-II-Fasern reicht das Faserspektrum von 10 bis 100 μm mit durchschnittlichen Durchmessern von 23,4 bis 50,1 μm .

Die Standardabweichung ist in allen Fällen bei Typ-II-Fasern größer als bei Typ-I-Fasern.

In Tabelle XIII sind Prozentverteilung und mittlerer Faserdurchmesser mit Standardabweichung der beiden Fasertypen für die einzelnen Versuchstiere zusammengestellt.

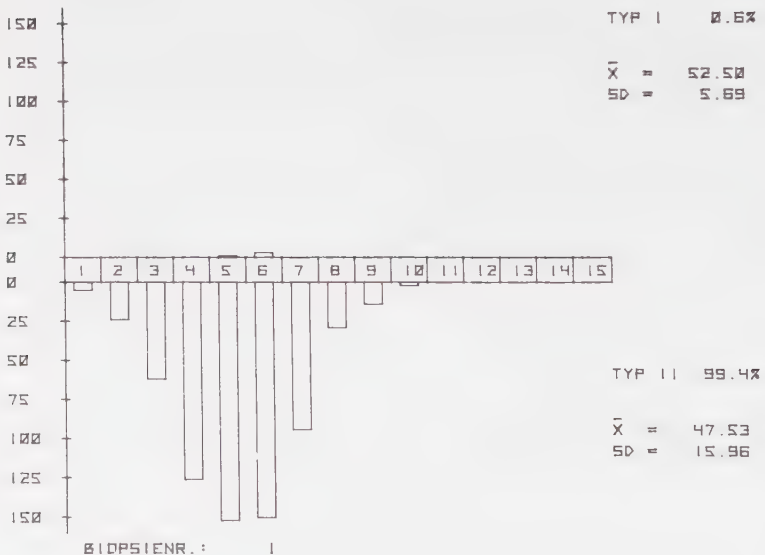


Abb. 7 Kaninchen (K 1), männlich, M.biceps femoris,
n = 662, $\bar{X}$ = mittlerer Faserdurchmesser, SD =
Standardabweichung

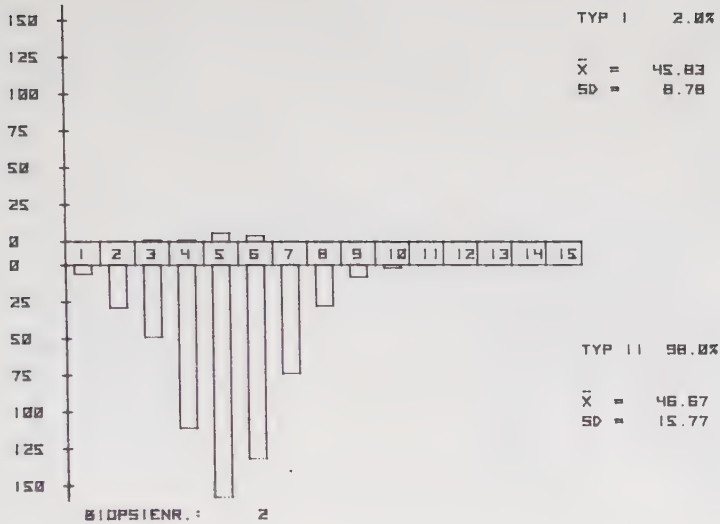


Abb. 8 Kaninchen (K 2), männlich, M.biceps femoris,
n = 609

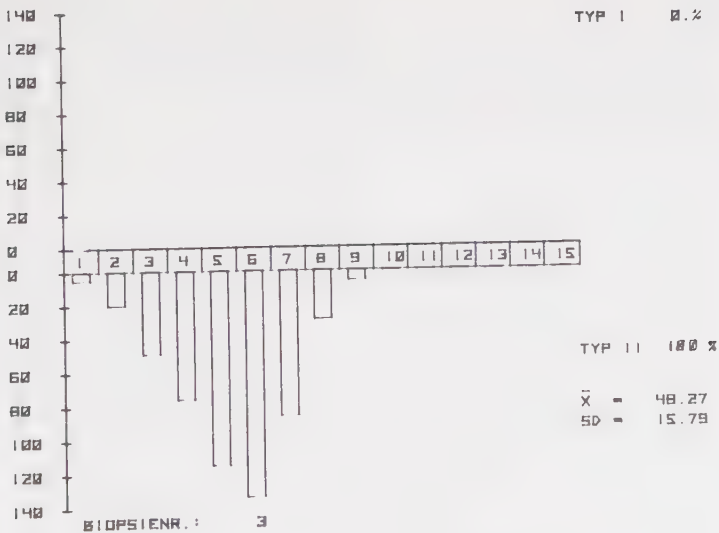


Abb. 9 Kaninchen (K 3), weiblich, M.biceps femoris
n = 522



Abb. 10 Kaninchen (K4), weiblich, M.biceps femoris
n = 427



Abb. 11 Kaninchen (K5), männlich, M.biceps femoris
n = 595

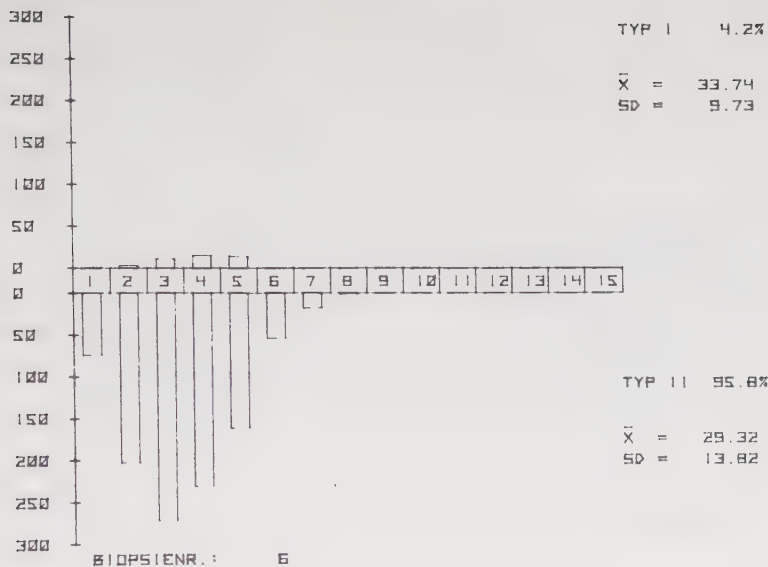


Abb. 12 Kaninchen (K 6), männlich, M.biceps femoris
 n = 1060



Abb. 13 Kaninchen (K 7), weiblich, M.biceps femoris
 n = 793

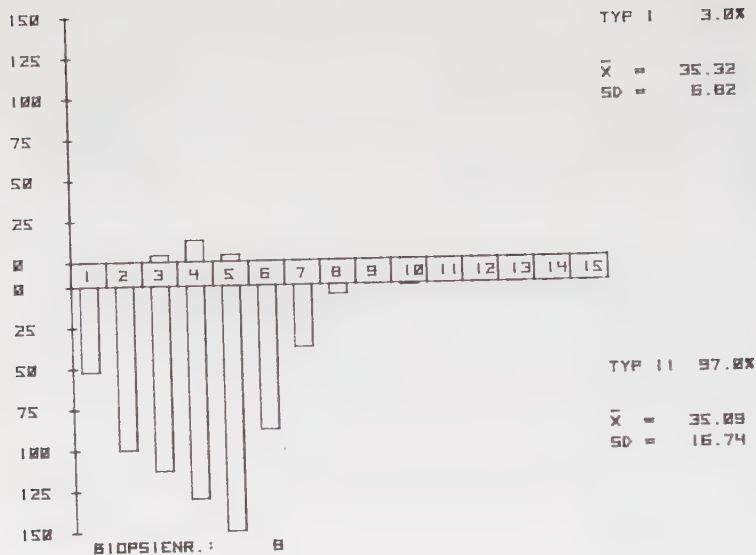


Abb. 14 Kaninchen (K 8), weiblich, M.biceps femoris
n = 699

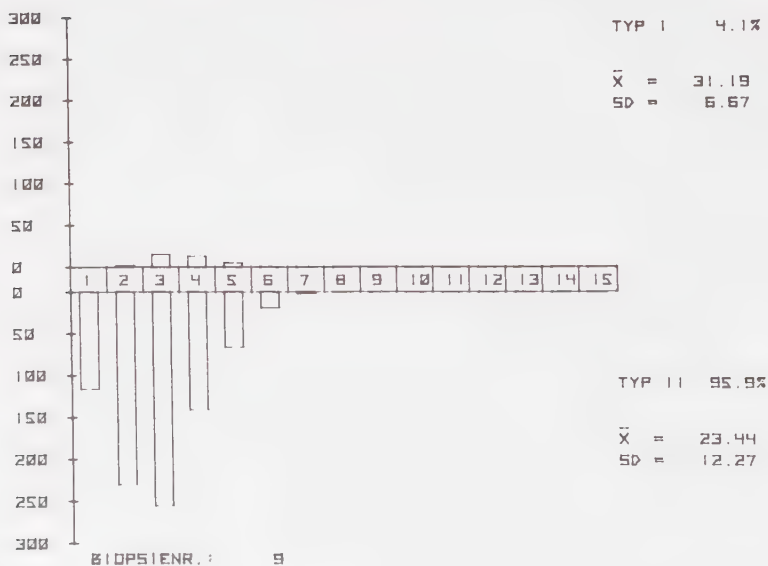


Abb. 15 Kaninchen (K 9), männlich, M.biceps femoris
n = 864

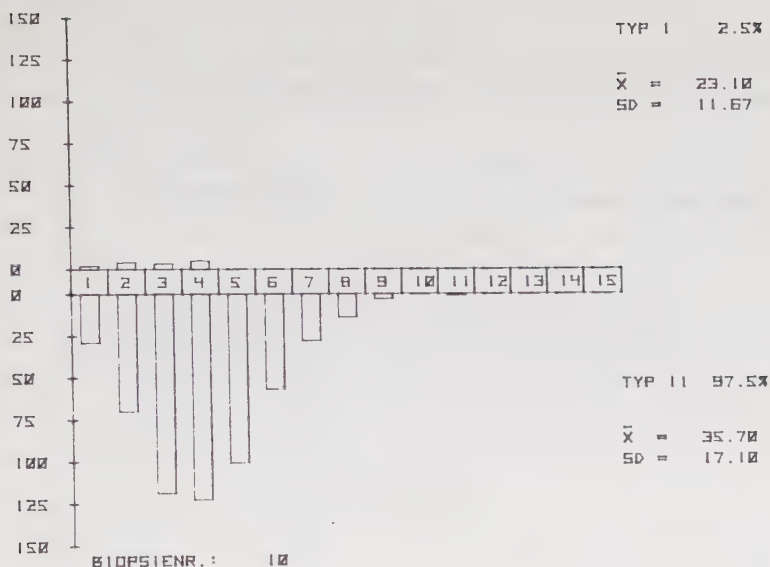


Abb. 16 Kaninchen (K 10), weiblich, M.biceps femoris
n = 559

Tabelle XIII

Die Prozentverteilung und mittlerer Faserdurchmesser mit Standardabweichung ($\bar{X} \pm SD$) der Biceps-femoris-Muskulatur von den 10 biopsierten Kaninchen (K1 bis K 10)

Tier-Nr.	Geschlecht	% Typ I	% Typ II	$\bar{X} \pm SD$ Typ I	$\bar{X} \pm SD$ Typ II
1	männlich	0,6	99,4	52,5 $\pm$ 5,7	47,5 $\pm$ 16,0
2	männlich	2,0	98,0	45,8 $\pm$ 8,8	46,7 $\pm$ 15,8
3	weiblich	0	100	0	48,3 $\pm$ 15,8
4	weiblich	0,9	99,1	55,8 $\pm$ 6,3	50,1 $\pm$ 17,3
5	männlich	0	100	0	44,0 $\pm$ 16,1
6	männlich	4,2	95,8	33,7 $\pm$ 9,7	29,3 $\pm$ 13,8
7	weiblich	2,6	97,4	29,6 $\pm$ 7,7	31,9 $\pm$ 15,6
8	weiblich	3,0	97,0	35,3 $\pm$ 6,8	35,1 $\pm$ 16,7
9	männlich	4,1	95,9	31,2 $\pm$ 6,7	23,4 $\pm$ 12,3
10	weiblich	2,5	97,5	23,1 $\pm$ 11,7	35,7 $\pm$ 17,1

Die Zusammenfassung der Einzelwerte in Megahistogrammen wurde getrennt nach Geschlecht erstellt (Abb. 17 und 18).

Bei den männlichen Kaninchen ergibt sich ein Prozentanteil der Typ-I-Fasern von 2,5% bei einem durchschnittlichen Durchmesser ($\bar{X}$) von $35,1 \pm 10,2 \mu\text{m}$ für Typ-I- und $36,4 \pm 17,7 \mu\text{m}$ für Typ-II-Fasern.

Für die weiblichen Tiere ergibt sich ein Prozentanteil der Typ-I-Fasern von 2,0% bei mittleren Durchmessern von $31,9 \pm 11,2$ für Typ-I und $38,9 \pm 17,9$ für Typ-II-Fasern.



Abb. 17 Megahistogramm: männliche Kaninchen
(n = 5; K1, K2, K5, K6, K9), M.biceps femoris
n = 3788



Abb. 18 Megahistogramm: weibliche Kaninchen (N = 5; K3, K4, K 7, K 8, K 10), M.biceps femoris n = 2998

In Tabelle XIV werden Prozentverteilung und mittlerer Faserdurchmesser der beiden Fasertypen getrennt für männliche und weibliche Kaninchen sowie für alle Tiere K 1 - K 10 erfaßt.

Tabelle XIV

	% Typ I	% Typ II	$\bar{X} \pm$ SD Typ I	$\bar{X} \pm$ SD Typ II
Kaninchen männlich N = 5	2,5	97,5	$35,1 \pm 10,2$	$36,4 \pm 17,7$
Kaninchen weiblich N = 5	2,0	98,0	$31,9 \pm 11,2$	$38,9 \pm 17,9$
Kaninchen gesamt N = 10	2,3	97,7	$33,9 \pm 10,8$	$37,5 \pm 17,8$

Von der Biceps-femoris-Muskulatur der zehn Kaninchen wurden insgesamt 6786 Fasern myometrisch erfaßt. Die Abbildung 19 zeigt das Summenhistogramm aller Kaninchen. In der Verteilungskurve zeigt sich ein Maximum beider Fasertypen in der Klassengröße 30 - 40 μ m.

In Tabelle XIV sind entsprechend dem Summenhistogramm Prozentzahl, mittlerer Faserdurchmesser und Standardabweichung für die beiden Fasertypen aufgeführt.



Abb. 19 Summenhistogramm: Kaninchen

(N = 10; K1 - K 10), M.biceps femoris, n = 6786

3.) Histologisch-histochemische Befunde der Skelettmuskulatur des Göttinger Miniaturschweines (GMS)

Die histologisch-histochemischen Befunde der Bicipes-femoris-Muskulatur des Göttinger Miniaturschweines ergaben normal dicht gelagerte Muskelfasern mit mehr polygonalem Querschnitt, eine subsarcolemmale Lage der Kerne und keine degenerativen oder regenerativen Veränderungen. Entzündliche Infiltrate fanden sich nirgends; die mitdargestellten Gefäße und Nerven, sowie das Bindegewebe waren unauffällig.

Auch beim Schwein ergaben alle histologischen und enzym-histochemischen Nachweise eine normale Darstellung der verschiedenen Fasertypen.(s. Abb. 20 - 28)

In den einzelnen histochemischen Färbungen konnten in Serienschnitten Typ-I-von Intermediär- und diese von Typ-II-Fasern deutlich abgegrenzt werden. Hierbei zeigt sich eine enge Nachbarschaft der Intermediärfasern zu den Typ-I-Fasern (s. Abb. 26, 27 und 28).

Die Längsschnitte zeigten in HE-Färbung eine normale Querstreifung.

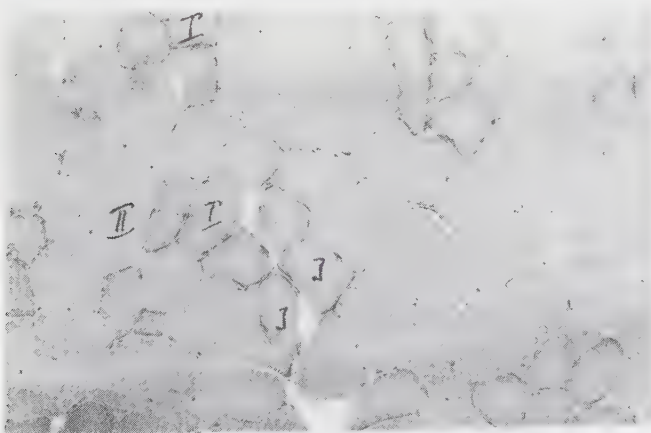


Abb. 20

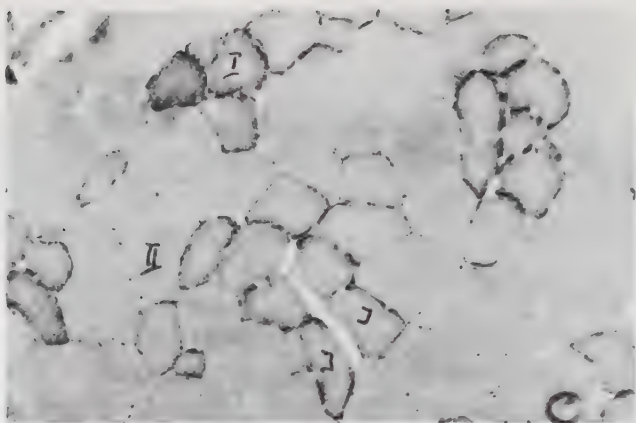


Abb. 21



Abb. 22

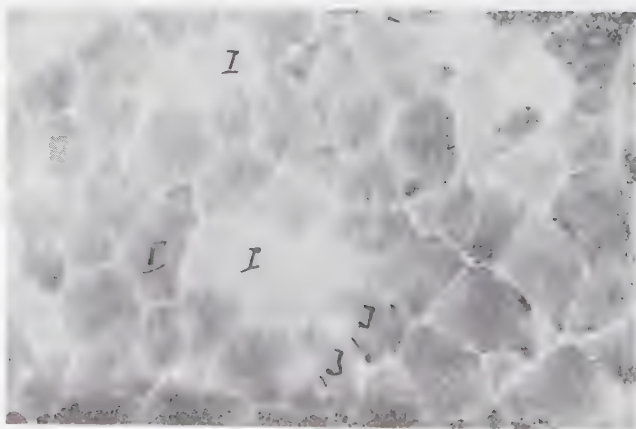


Abb. 23

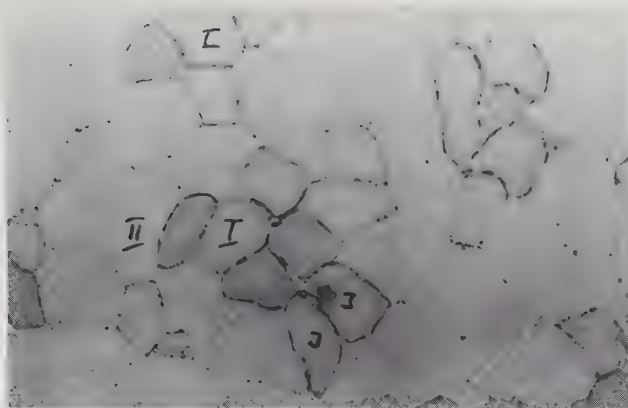


Abb. 24

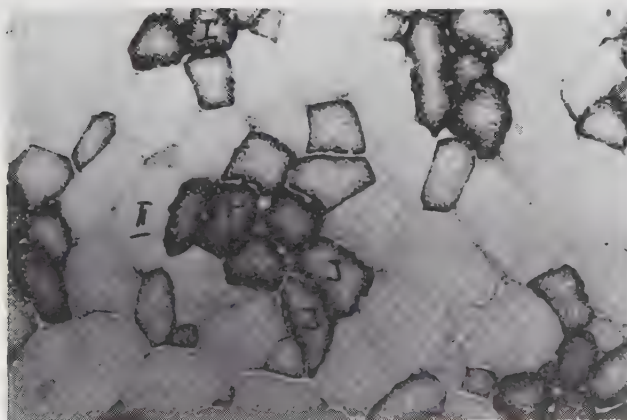


Abb. 25

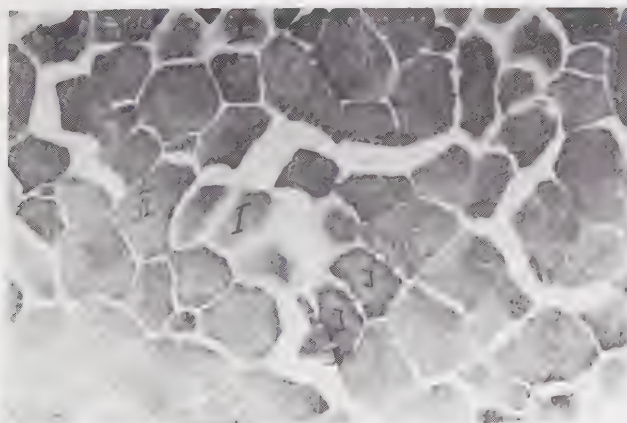


Abb. 26

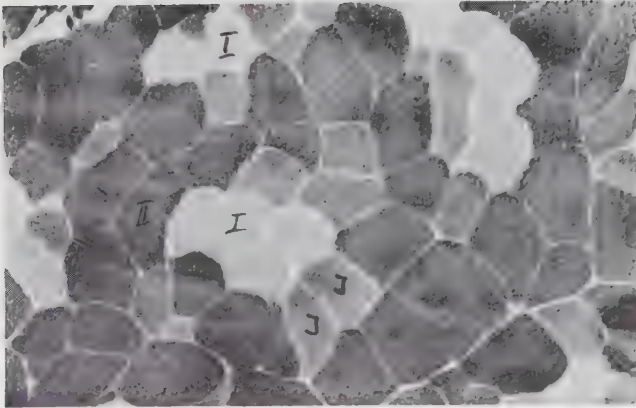


Abb. 27



Abb. 28

Zur Abbildung 20 - 28: Göttinger Miniaturschwein,
Biopsie-Nr. 9 (GMS 9), männlich,
M.biceps femoris, Vergrößerung : 150fach.

Serienschnitt: Identische Fasern sind mit I, II und J gekennzeichnet.

20 HE, 21 Gomori-Trichrom, 22 saure Phosphatase, 23 PAS,
24 Sudan-Fettfärbung, 25 NADH, 26 Phosphorylase, 27 ATP-
ase, bei pH 9,4, 28 ATPase bei pH 4,63

4.) Myometrische Analyse der Biceps-femoris-Muskulatur des Göttinger Miniaturschweines

Die Abbildungen 29 mit 38 zeigen die Verteilung der Fasergrößen, klassiert in Gruppen von $10\ \mu\text{m}$ und getrennt nach Fasertypen. Zusätzlich werden Prozentanteil und mittlerer Faserdurchmesser mit Standardabweichung für beide Fasertypen in den Abbildungen angegeben.

Der Anteil der Typ-I-Fasern liegt zwischen 9,3 und 28,9%. Das Faserspektrum variiert bei den Typ-I-Fasern von $10 - 90\ \mu\text{m}$ mit einem durchschnittlichen Faserdurchmesser ($\bar{X}$) von $36,7$ bis $57,6\ \mu\text{m}$.

Das Faserspektrum der Typ-II-Fasern reicht von 10 bis $140\ \mu\text{m}$ mit durchschnittlichen Durchmessern von $39,3$ bis $69,7\ \mu\text{m}$.

Mit einer Ausnahme ist die Standardabweichung bei Typ-II-Fasern größer als die der Typ-I-Fasern.

In Tabelle XV sind Prozentverteilung und durchschnittlicher Faserdurchmesser der beiden Fasertypen sowie Standardabweichung für die 10 untersuchten Schweine dargestellt.

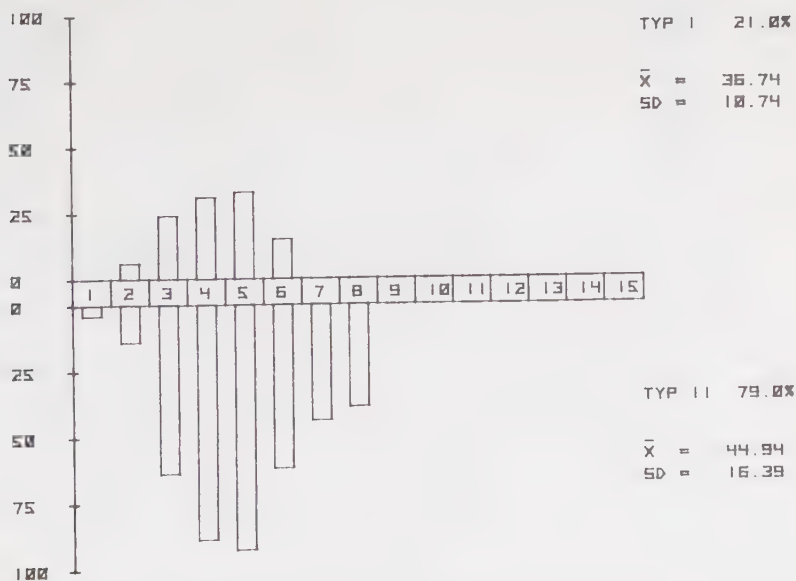


Abb. 29 Göttinger-Miniaturschwein (Biopsie-Nr.1, GMS 1), männl.
M.biceps femoris, n = 518

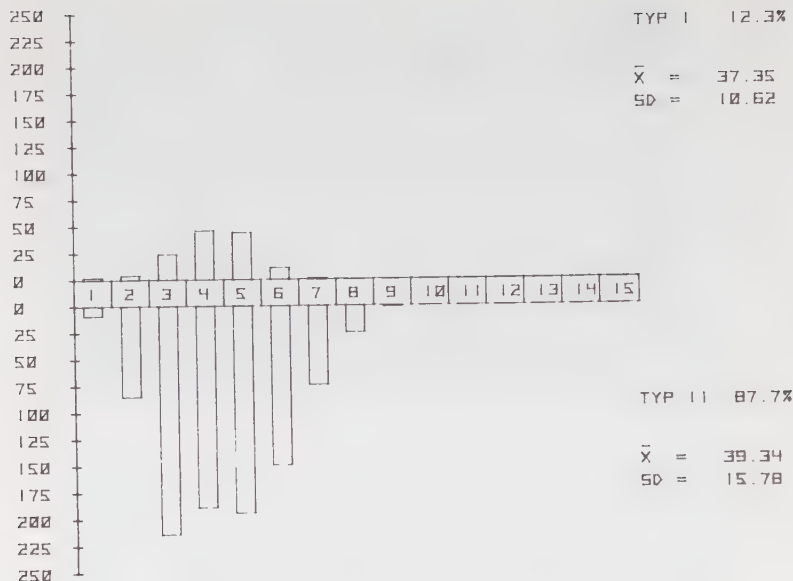


Abb. 30 GMS 4, weiblich, M.biceps femoris
n = 1072

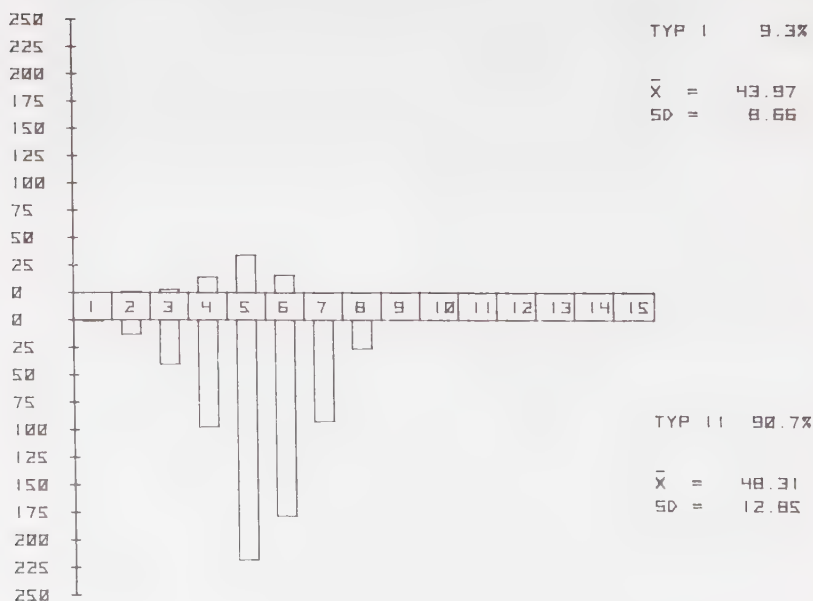


Abb. 31 GMS 5, weiblich, M.biceps femoris
n = 733



Abb. 32 GMS 6, weiblich, M.biceps femoris
n = 795

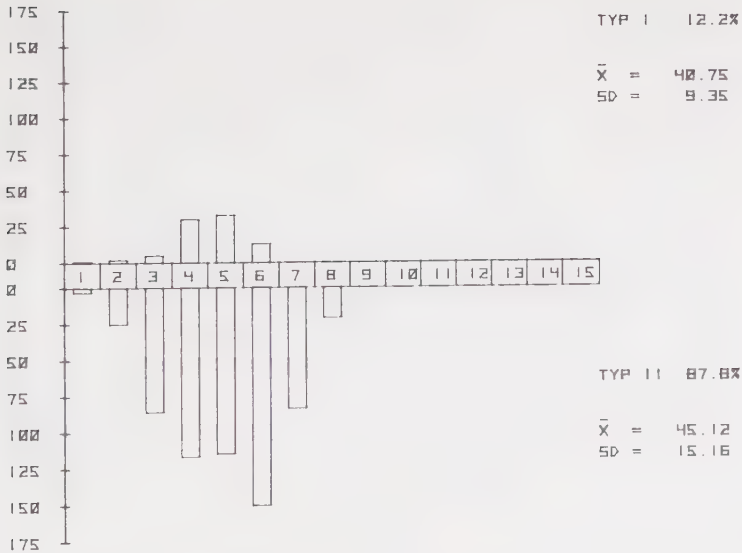


Abb. 33 GMS 7, weiblich, M.biceps femoris
n = 686

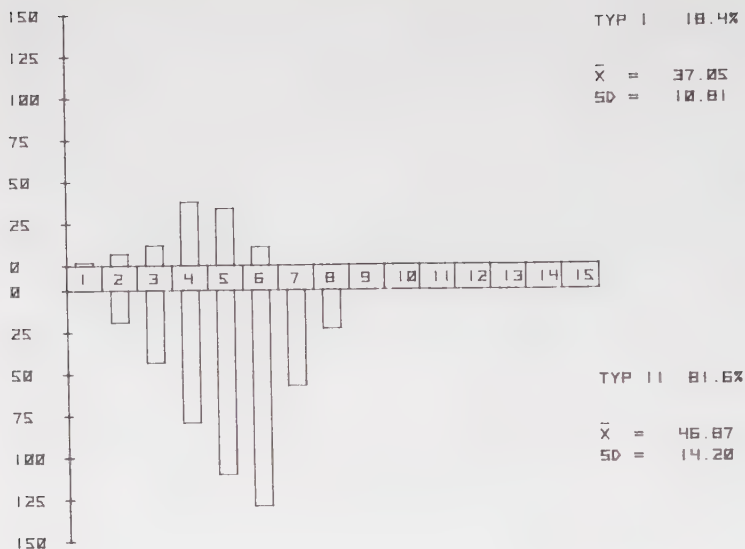


Abb. 34 GMS 8, männlich, M.biceps femoris
n = 564

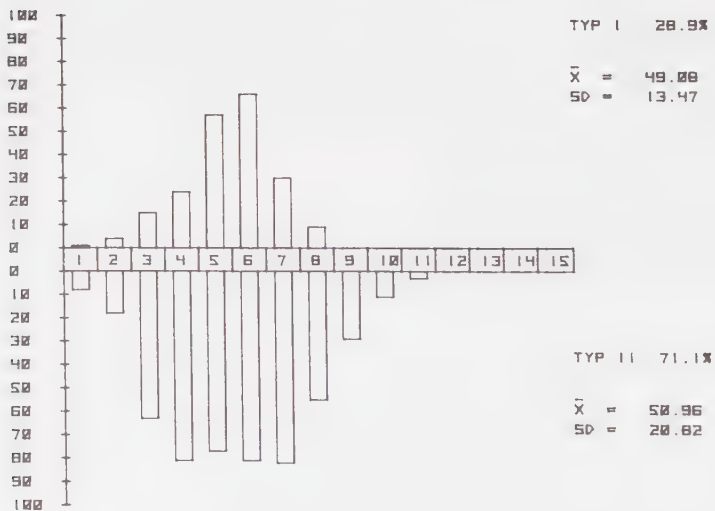


Abb. 35 GMS 9, männlich, M.biceps femoris
n = 714



Abb. 36 GMS 10, männlich, M.biceps femoris
n = 598



Abb. 37 GMS 11, männlich, M.biceps femoris
n = 611

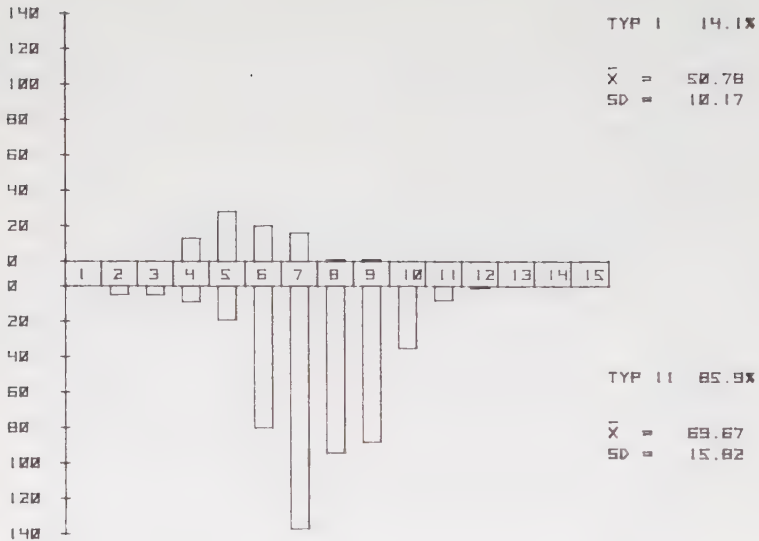


Abb. 38 GMS 12, männlich, M.biceps femoris
n = 560

Tabelle XV

Prozentverteilung und durchschnittlicher Faserdurchmesser mit Standardabweichung ($\bar{X} \pm SD$) der Biceps-femoris-Muskulatur von den 10 Göttinger Miniaturschweinen.

Biopsie-Nr.	Geschlecht	% Typ I	% Typ II	$\bar{X} \pm SD$ Typ I	$\bar{X} \pm SD$ Typ II
1	männlich	21,0	79,0	36,7 $\pm$ 10,7	44,9 $\pm$ 16,4
4	weiblich	12,3	87,7	37,4 $\pm$ 10,6	39,3 $\pm$ 15,8
5	weiblich	9,3	90,7	44,0 $\pm$ 8,7	48,3 $\pm$ 12,9
6	weiblich	9,9	90,1	45,5 $\pm$ 12,9	47,0 $\pm$ 12,7
7	weiblich	12,2	87,8	40,8 $\pm$ 9,4	45,1 $\pm$ 15,2
8	männlich	18,4	81,6	37,1 $\pm$ 10,8	46,9 $\pm$ 14,2
9	männlich	28,9	71,1	49,1 $\pm$ 13,5	51,0 $\pm$ 20,8
10	männlich	19,9	80,1	57,6 $\pm$ 14,8	57,5 $\pm$ 23,0
11	männlich	11,5	88,5	39,9 $\pm$ 14,5	54,6 $\pm$ 18,0
12	männlich	14,1	85,9	50,8 $\pm$ 10,2	69,7 $\pm$ 15,8

Die getrennt nach Geschlecht erstellten Megahistogramme für das Göttinger Miniaturschwein ergeben deutliche Geschlechtsunterschiede.

Der Prozentanteil der Typ-I_Fasern liegt für männliche Tiere bei 19,4, für weibliche bei 11,1 %.

Für die Biceps- femoris-Muskulatur männlicher Schweine liegt der mittlere Durchmesser bei $46,2 \mu\text{m}$ für Typ-I und bei $54,6 \mu\text{m}$ für Typ-II-Fasern.

Die Werte für die weiblichen Tiere sind $41,1 \mu\text{m}$ für Typ-I und $44,5 \mu\text{m}$ für Typ-II-Fasern.

Die Tabelle XVI unterrichtet über Prozentverteilung, mittleren Faserdurchmesser und Standardabweichung der beiden Fasertypen für die Schweinemuskulatur, getrennt nach Geschlecht sowie für alle GMS.

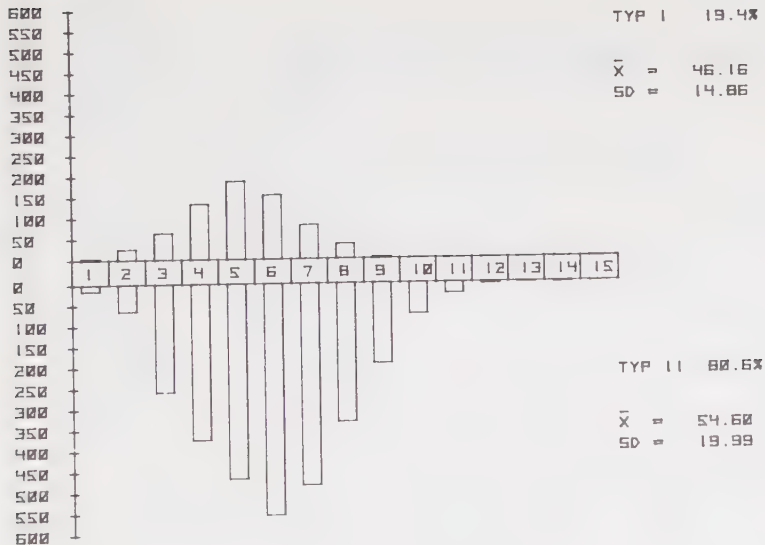


Abb. 39 Megahistogramm: männliche GMS
(N = 6; GMS 1, 8, 9, 10, 11, 12) M.biceps femoris
n = 3548



Abb. 40 Megahistogramm: weibliche GMS
(N = 4; GMS 4, 5, 6, 7) M. biceps femoris
n = 3276

Tabelle XVI

	% Typ-I	% Typ-II	$\bar{X} \pm SD$ Typ I	$\bar{X} \pm SD$ Typ II
GMS männlich N = 6	19,4	80,6	46,2 $\pm$ 14,9	54,6 $\pm$ 20,0
GMS weiblich N = 4	11,1	88,9	41,1 $\pm$ 11,1	44,5 $\pm$ 14,8
GMS gesamt N = 10	15,4	84,6	44,4 $\pm$ 13,9	49,5 $\pm$ 18,3

Insgesamt wurden von der Biceps-femoris-Muskulatur des Göttinger Miniaturschweines 6824 Fasern myometrisch ausgewertet.

Das Summenhistogramm für alle Göttinger Miniaturschweine zeigt Abb. 41. In der Verteilungskurve stellt sich das Maximum für Typ-I-Fasern in der Klassengröße 40 bis 50 μm , das der Typ-II-Fasern mit 1233 Fasern in der Klassengröße 50 - 60 μm dar.

In Tabelle XVI sind entsprechend dem Summenhistogramm Prozentzahl, mittlerer Faserdurchmesser und Standardabweichung für die beiden Fasertypen aufgeführt.

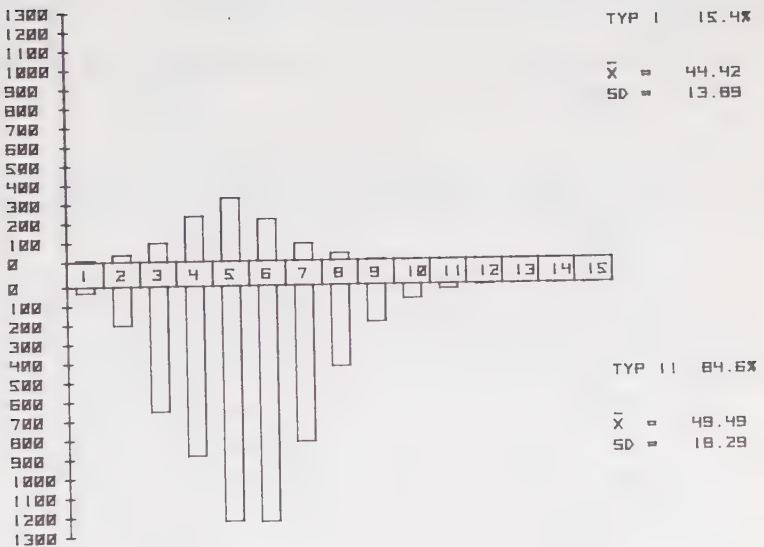


Abb. 41 Summenhistogramm: Göttinger Miniaturschwein
(N = 10; GMS 1 und GMS 4 mit 12) M.biceps femoris
n = 6824

5.) Histologisch-histochemische Befunde der normalen Skelettmuskulatur des Menschen

In allen untersuchten Fällen ergaben sich normal dicht gelagerte Muskelfasern von rundlichem Querschnitt. In vier Fällen wurden gering vermehrte Kalibervariationen festgestellt. Die Kerne lagen in normaler subsarcolemmaler Position. Degenerative bzw. regenerative Veränderungen oder entzündliche Infiltrate waren nicht nachweisbar.

Das mit dargestellte Bindegewebe und die Nervenfasern waren unauffällig.

Alle enzymhistochemischen Färbungen ergaben eine normale Darstellung der einzelnen Fasertypen, wobei in der NADH und ATPase-Reaktion das typische Mosaikmuster zur Darstellung kam.

Die Längsschnitte zeigten in der HE-Färbung eine normale Querstreifung.

6.) Myometrische Analyse der normalen Skelettmuskulatur des Menschen

Wie die Einzelhistogramme (Abb. 42 mit 51) und Tabelle XVII zeigen, liegt der prozentuale Anteil der Typ-I-Fasern zwischen 27,1 und 53,6 %.

Das Faserspektrum der Typ-I-Fasern reicht von 20 bis 80 μm mit einem durchschnittlichen Faserdurchmesser ($\bar{x}$) von 41,9 bis 55,8 μm .

Das Faserspektrum der Typ-II-Fasern reicht von 20 bis 90 μm mit durchschnittlichen Durchmessern von 40,0 bis 59,3 μm .

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß bei den weiblichen Patienten eine Typ-I-Faser mit 90 μm sowie eine Typ-II-Faser mit 10 μm und zwei Typ-II-Fasern mit 90 μm gefunden wurden. Bei männlichen Patienten konnten zwei Typ-II-Fasern mit 100 μm gefunden werden. Bei der großen Anzahl von insgesamt 6390 ausgewerteten Fasern können diese Fasern u.E. vernachlässigt werden.

Die Standardabweichung der Typ-II-Fasern ist in allen Fällen höher als die der Typ-I-Fasern.

In Tabelle XVII sind Prozentverteilung und durchschnittlicher Faserdurchmesser sowie Standardabweichung der beiden Fasertypen für die 10 Muskelbiopsien vom Menschen aufgeführt.

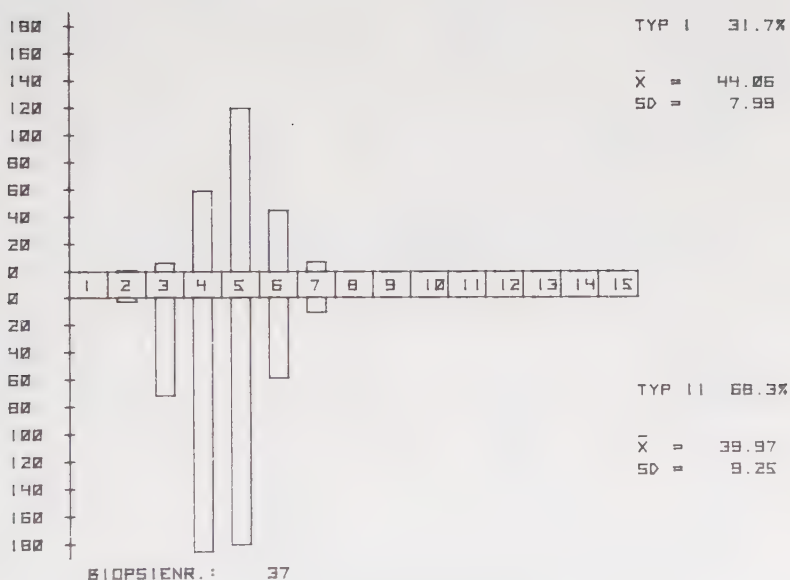


Abb. 42 Patient H.C., weiblich, 26 Jahre, Biopsie-Nr. 37
M. quadriceps femoris, n = 750

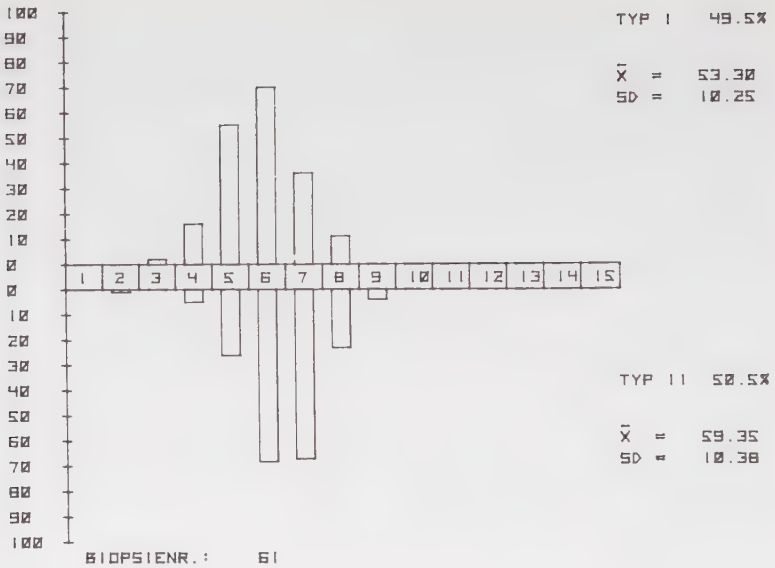


Abb. 43 Patient R.M., männlich, 52 Jahre, Biopsie-Nr. 61
M. quadriceps femoris, n = 384

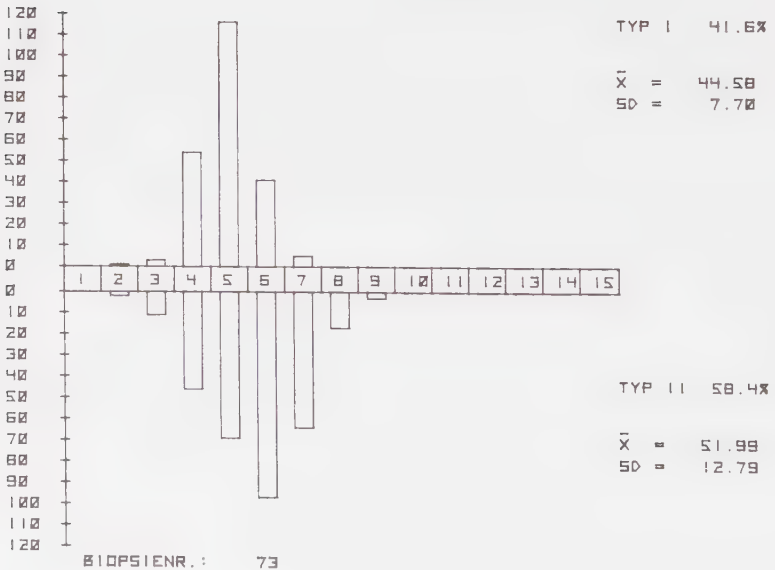


Abb. 44 Patient R.H., männlich, 41 Jahre, Biopsie-Nr. 73
M. biceps brachii, n = 529

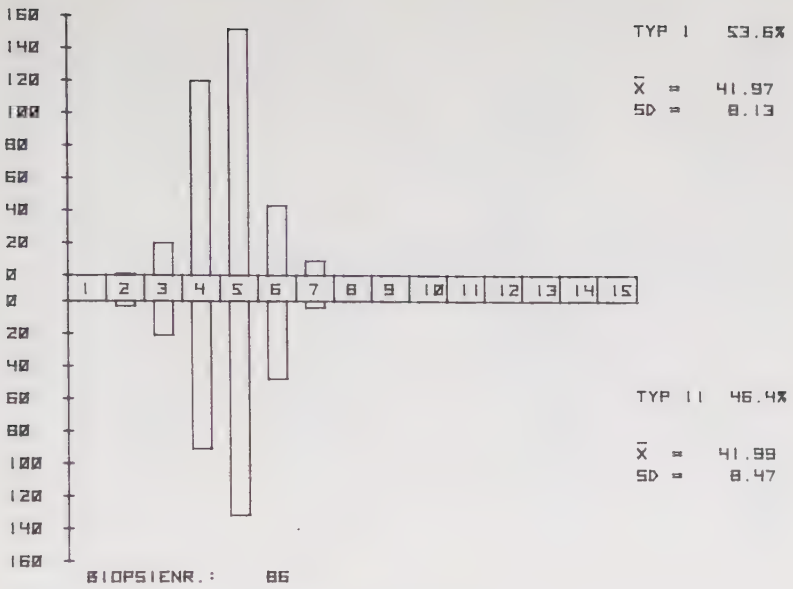


Abb. 45 Patient J.C., weiblich, 17 Jahre, Biopsie-Nr. 86
M.tibialis anterior

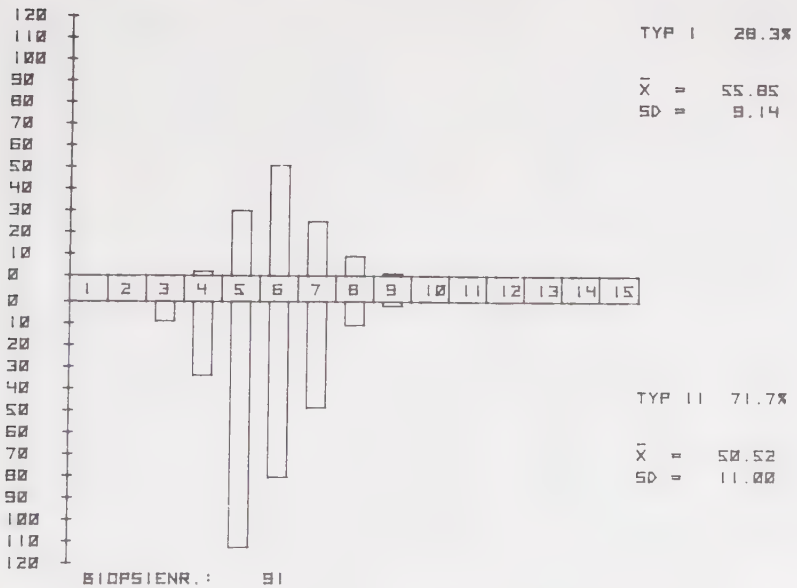


Abb. 46 Patient M.A., weiblich, 39 Jahre, Biopsie-Nr. 91
M.quadriceps femoris, n = 417

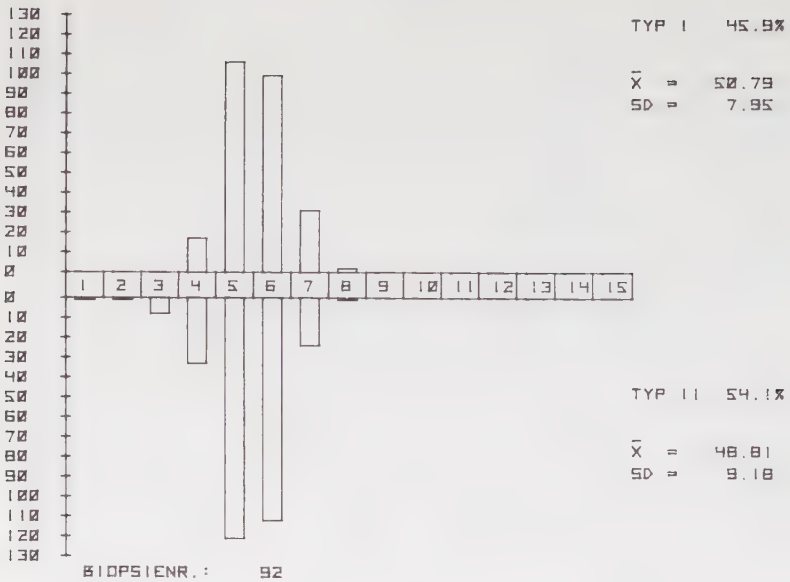


Abb. 47 Patient B.C., weiblich, 23 Jahre, Biopsie-Nr. 92
M.quadriceps femoris, n = 556

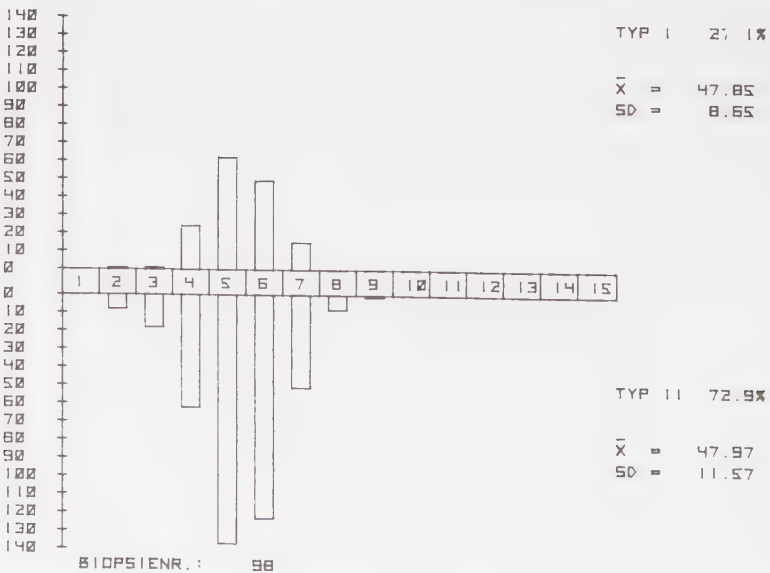


Abb. 48 Patient K.H., männlich, 69 Jahre, Biopsie-Nr. 98
M.quadriceps femoris, n = 560

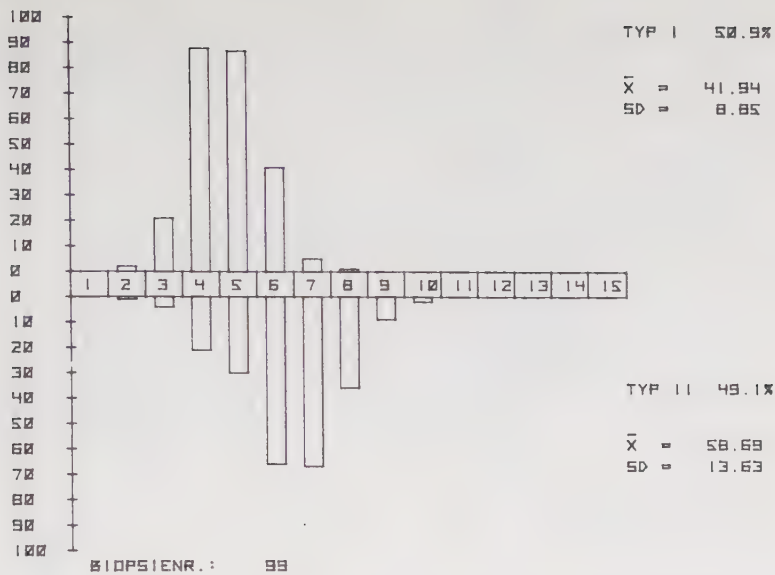


Abb. 49 Patient F.G., männlich, 46 Jahre, Biopsie-Nr. 99
M. quadriceps femoris, n = 481

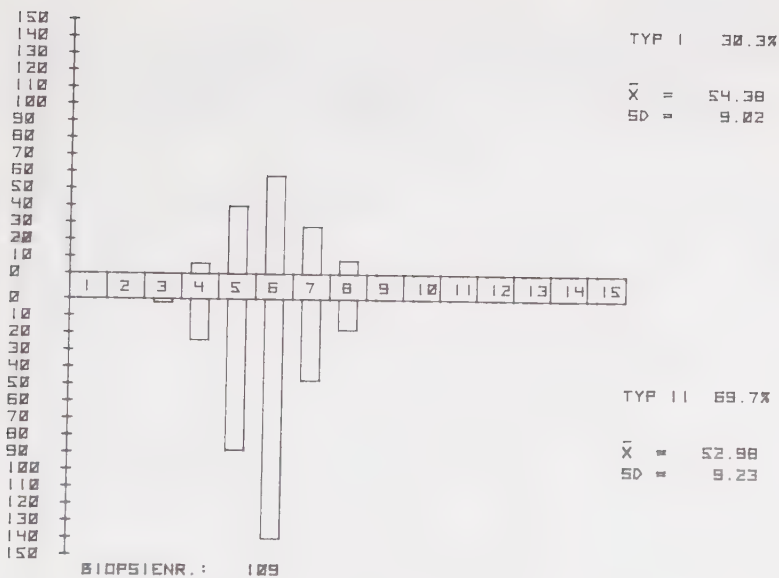


Abb. 50 Patient K.H., männlich, 26 Jahre, Biopsie-Nr. 109
M. quadriceps femoris, n = 462

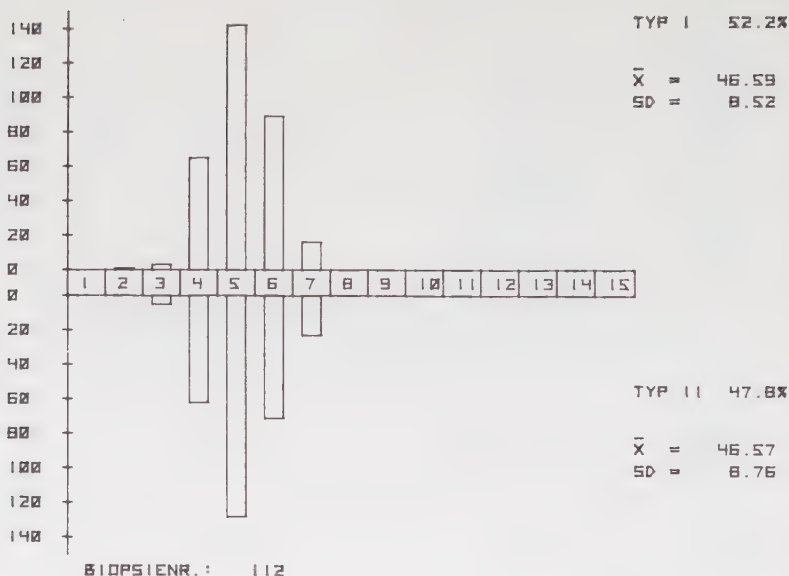


Abb. 51 Patient E.I., weiblich, 38 Jahre, Biopsie-Nr. 112
M.quadriceps femoris, n = 605

Tabelle XVII

Prozentverteilung und mittlerer Faserdurchmesser mit Standardabweichung ($\bar{X} \pm SD$) der 10 Muskelbiopsien vom Menschen (ausser * und ** handelt es sich um den M.quadriceps femoris)

Biopsie-Nr.	Geschlecht	% Typ I	% Typ II	$\bar{X} \pm SD$ Typ I	$\bar{X} \pm SD$ Typ II
37	weiblich	31,7	68,3	44,1 $\pm$ 8,0	40,0 $\pm$ 9,3
61	männlich	49,5	50,5	53,3 $\pm$ 10,3	59,4 $\pm$ 10,4
*73	männlich	41,6	58,4	44,6 $\pm$ 7,7	52,0 $\pm$ 12,8
** 86	weiblich	53,6	46,4	42,0 $\pm$ 8,1	42,0 $\pm$ 8,5
91	weiblich	28,3	71,7	55,9 $\pm$ 9,1	50,5 $\pm$ 11,0
92	weiblich	45,9	54,1	50,8 $\pm$ 8,0	48,8 $\pm$ 9,2
98	männlich	27,1	72,9	47,9 $\pm$ 8,7	48,0 $\pm$ 11,6
99	männlich	50,9	49,1	41,9 $\pm$ 8,9	58,7 $\pm$ 13,6
109	männlich	30,3	69,7	54,4 $\pm$ 9,0	53,0 $\pm$ 9,2
112	weiblich	52,2	47,8	46,6 $\pm$ 8,5	46,6 $\pm$ 8,8

* M. biceps brachii

** M. tibialis anterior

Die getrennt nach Geschlecht erstellten Megahistogramme (s. Abb. 52 u. 53) ergeben bei den Männern einen Prozentanteil für Typ-I-Fasern von 40,1, bei den Frauen von 42,6 %.

Bei Männern ist der mittlere Faserdurchmesser der Typ-II-Fasern 53,9 μ m. Bei Frauen wird für Typ-I-Fasern ein mittlerer Faserdurchmesser von 46,6 und für Typ-II-Fasern von 44,9 errechnet.

In Tabelle XVIII werden getrennt nach Geschlecht sowie für alle untersuchten Muskeln die prozentualen Anteile, die mittleren Faserdurchmesser und die Standardabweichung für die beiden Fasertypen angegeben.

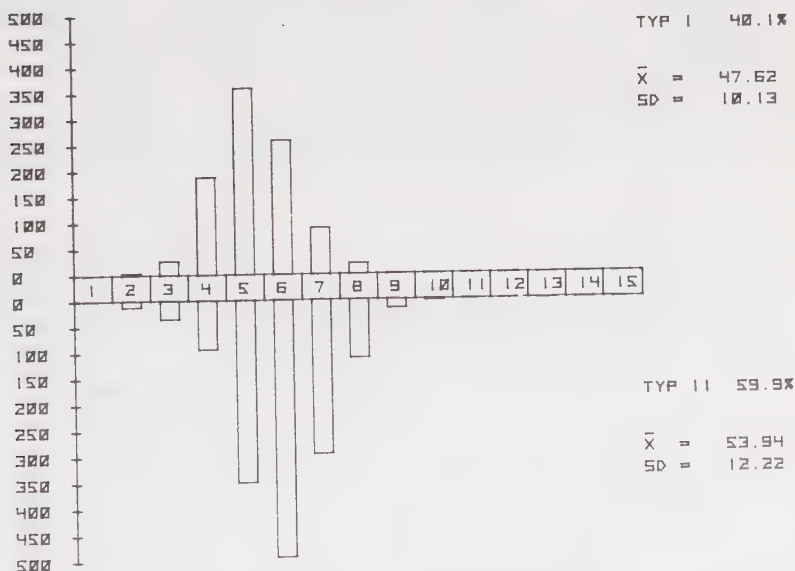


Abb. 52 Megahistogramm: Männer
(N = 5; Biopsie-Nr. 61, 73, 98, 99, 109), n = 2362

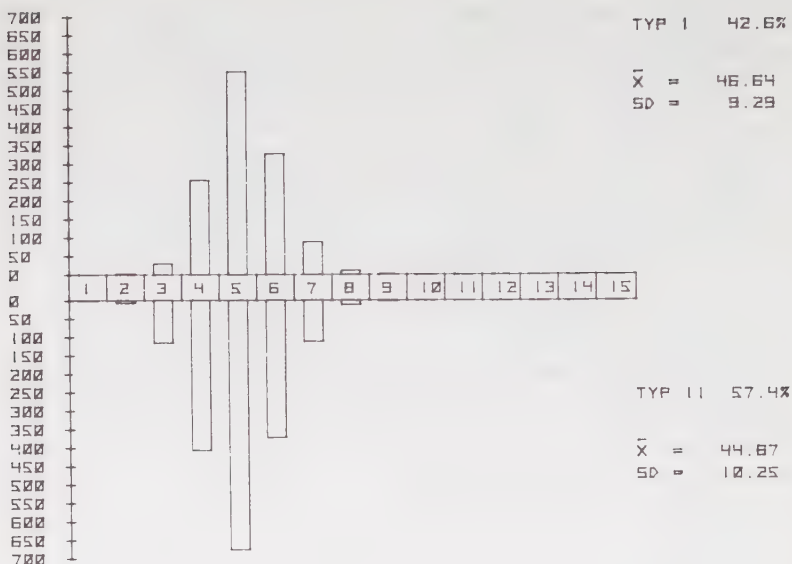


Abb. 53 Megahistogramm: Frauen
(N = 5, Biopsie-Nr. 37, 86, 91, 92, 112), n = 2964

Tabelle XVIII

	% Typ I	% Typ II	$\bar{X} \pm \text{SD Typ I}$	$\bar{X} \pm \text{SD Typ II}$
Männer	40,1	59,9	47,6 $\pm$ 10,1	53,9 $\pm$ 12,2
Frauen	42,6	57,4	46,6 $\pm$ 9,3	44,9 $\pm$ 10,3
gesamt	41,0	59,0	47,1 $\pm$ 9,7	48,8 $\pm$ 12,0

Insgesamt wurden vom Menschen 5390 Muskelfasern myometrisch erfaßt. Abbildung 54 zeigt das Summenhistogramm aller Muskelbiopsien vom Menschen. In Der Verteilungskurve ergibt sich für beide Fasertypen ein Maximum in der Klassengröße 40 - 50 μm . In Tabelle XVIII sind entsprechend dem Summenhistogramm Prozentzahl, mittlerer Faserdurchmesser und Standardabweichung für die beiden Fasertypen aufgeführt.

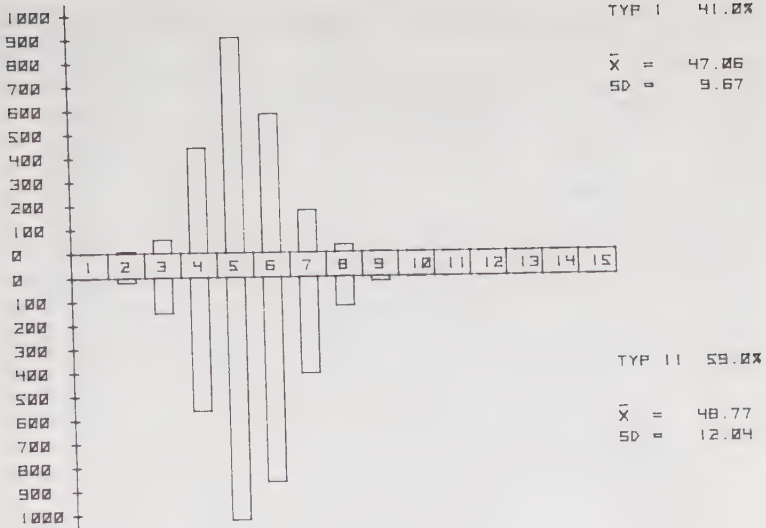


Abb. 54 Summenhistogramm: Frauen und Männer
 (N = 10), n = 5390

Wie aus den Kasuistiken in Kapitel V zu ersehen ist, wurden in vier Fällen der ausgewählten Normalgruppe "diskrete, diagnostische unspezifische myopathologische Veränderungen" diagnostiziert. Zur genaueren Analyse und Überprüfung, inwieweit diese Fälle vom Normalbefund abweichen, wurden für die Biopsien vom Menschen zusätzlich zu den für Kaninchen und Göttinger Miniaturschwein ermittelten Daten der Variationskoeffizient (VK), sowie der Atrophie -und Hypertrophiefaktor (AF und HF) bestimmt.

In Tabelle XIX werden die für die einzelnen Biopsien ermittelten Daten aufgeführt.

Tabelle XIX

Biopsie-Nr.	Atrophiefaktor		Hypertrophiefaktor		Variationskoeffizient	
	Typ I	Typ II	Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
37 ♀	33,6	152,3	0,0	0,0	181,4	231,5
61 ♂ ⁿ	105,3	41,2	0,0	20,6	192,3	174,9
73 ♂ ⁿ	286,4	239,5	0,0	9,7	172,7	246,0
86 ♀	63,8	90,3	0,0	0,0	193,7	201,7
91 ♀	0,0	30,1	93,2	50,2	163,7	217,8
92 ♂	0,0	43,2	7,8	3,3	156,6	188,1
98 ♂ ^l	190,8	299,0	0,0	2,5	180,8	241,3
99 ♂ ⁿ	555,1	135,6	0,0	55,1	211,1	232,3
109 ♂ ^l	42,9	87,0	0,0	0,0	165,8	174,3
112 ♂ ⁺	15,8	17,3	0,0	0,0	182,9	188,1

In Tabelle XX werden Prozentverteilung und durchschnittlicher Faserdurchmesser mit Standardabweichung ($\bar{X} \pm SD$) entsprechend den Summenhistogrammen von Kaninchen, Göttinger-Miniaturschwein und Mensch gegenübergestellt.

Tabelle XX

	% Typ I	% Typ II	$\bar{X} \pm SD$ Typ I	$\bar{X} \pm SD$ Typ II
Kaninchen	2,3	97,7	$33,9 \pm 10,8$	$37,5 \pm 17,8$
GMS	15,4	84,6	$44,4 \pm 13,9$	$49,5 \pm 18,3$
Mensch	41,0	59,0	$47,1 \pm 9,7$	$48,8 \pm 12,0$

VII. Diskussion

1.) Histologisch-histochemische Befunde

Bei der histologisch-histochemischen Untersuchung waren weder bei den beiden Versuchstierspezies noch beim Menschen pathologische Befunde nachweisbar.

Sämtliche histologische und enzymhistologische Färbungen bzw. Reaktionen ergaben eine normale Darstellung der verschiedenen Fasertypen.

Bei der enzymhistochemischen Untersuchung der Biceps-femoris-Muskulatur des Kaninchens imponierten die wenigen vereinzelt stehenden Typ-I-Fasern. Bei zwei Tieren (K 3 und K 5) konnte keine Typ-I-Faser nachgewiesen werden. In Serienschnitten waren regellos vereinzelt stehende Intermediärfasern deutlich von Typ-I- und Typ-II-Fasern abgrenzbar.

Die enzymhistochemischen Befunde der Biceps-femoris-Muskulatur des Göttinger Miniaturschweines stimmen mit den am Schwein gefundenen Ergebnissen von Ashmore und Doerr (4) sowie von Peter et al. (79) überein. (s. S. 22) Im Gegensatz zu Ashmore's Befunden jedoch fanden wir bei den Intermediärfasern keine auffällige Glycogenvermehrung gegenüber den Typ-II-Fasern (vergl. S. 23 und Abb. 23). In der mikroskopischen Übersicht fallen beim Göttinger Miniaturschwein im Gegensatz zum Kaninchen und Mensch eine mehr polygonale Form der Faserquerschnitte und eine enge Nachbarschaft der Intermediärfasern zu den Typ-I-Fasern auf. Diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen von Cooper et al. (22) überein.

Der histologisch und enzymhistologische Befund an der Skelettmuskulatur des Menschen entsprach in sämtlichen Färbungen und Reaktionen dem bekannten Normalbild.

2.) Myometrische Analyse

In der einschlägigen Literatur finden sich weder vom Schwein noch vom Kaninchen derartige myometrische Analysen bzw. Histogramme. Lediglich in der Studie von Peter et al. (79) werden Prozentzahlen für die verschiedenen Fasertypen der Kaninchen- und Schweinemuskulatur angegeben.

Die Autoren fanden in der Soleusmuskulatur des Kaninchens 96 % Typ-I- und 4% Intermediärfasern, im M.semi-membranosus 2 % Typ-I, 12 % Intermediär- und 86 % Typ-II-Fasern. Faßt man Typ-II-Fasern und Intermediärfasern entsprechend Tabelle XII nach Engel, Dubowitz und Pearse (36, 28) zusammen, ergeben sich für die Kaninchenmuskulatur folgende prozentuale Verteilung:

Tabelle XXI

	Typ-I-Fasern	Typ-II-Fasern
M.semimembranosus	2 %	98 %
M. soleus	96 %	4 %

Wie aus den von uns erstellten Summenhistogrammen und Tabelle XIV ersichtlich, stimmen die Prozentzahlen der Biceps-femoris Muskulatur des Kaninchens mit den von Peter et al. für den M.semimembranosus gefundenen Werten überein.

Entsprechend den Einzelhistogrammen und Tabelle XIII liegen bei männlichen Tieren die mittleren Durchmesser der Typ-I-Fasern zwischen 31,2 und 52,5, die der Typ-II-Fasern zwischen 23,44 und 47,5 μm .

Bei den weiblichen Kaninchen finden sich Werte für Typ-I-Fasern zwischen 23,1 und 55,8 μm , für Typ-II-Fasern zwischen 31,9 und 50,1 μm .

Die interindividuellen Unterschiede für die Biceps-femoris-Muskulatur sind demnach groß und betragen für beide Fasertypen etwa $20\text{ }\mu\text{m}$.

Ein Vergleich der Summen-mit den Megahistogrammen und Tabelle XIV verdeutlichen, daß weder für die prozentualen Anteile noch für die mittleren Faserdurchmesser der beiden Fasertypen auffällige geschlechtsspezifische Unterschiede bestehen. Im Vergleich zum jeweils anderen Geschlecht sind Typ-I-Fasern bei männlichen, Typ-II-Fasern bei weiblichen Tieren um geringe Beträge größer.

In den Verteilungskurven der Megahistogramme liegen die Maxima für Typ-I-Fasern in der Größenklasse $30 - 40\text{ }\mu\text{m}$, für Typ-II-Fasern bei den männlichen Tieren ebenfalls in der Klasse $30 - 40\text{ }\mu\text{m}$, und bei den weiblichen Kaninchen in der Klasse $40 - 50\text{ }\mu\text{m}$.

Auffallend ist im Vergleich zum Göttinger Miniaturschwein und zum Menschen der relativ geringe Durchmesser für beide Fasertypen (s. Tab. XX)

Für beide Fasertypen ergeben sich um etwa $10\text{ }\mu\text{m}$ kleinere Werte.

Bemerkenswert ist auch eine hohe Standardabweichung für beide Fasertypen. In den Megahistogrammen erreicht sie für Typ-II-Fasern Werte bis 17,9, womit fast 50 % des mittleren Faserdurchmessers erreicht werden (vergl. Tab. XIV).

Dem entspricht in den graphischen Darstellungen (Abb. 7 - 19) eine vermehrte Kalibervariation von $10 - 100\text{ }\mu\text{m}$.

Peter et al. (79) fanden in der Soleusmuskulatur des Guineaschweines 100 % " rote " (Typ-I), in dem weißen Anteil der Vastusmuskulatur 29 % Intermediär- und 71 % Typ-II-Fasern und im " roten Vastus " 4 % Typ-I, 78 % Intermediär- und 18 % Typ-II-Fasern.

Daraus ergibt sich folgende Verteilung:

Tabelle XXII

	Typ-I-Fasern	Typ-II-Fasern
M. soleus	100 %	0 %
roter Vastus	4 %	96 %
weißer Vastus	0 %	100 %

Weitere Vergleichswerte sind uns aus der Literatur nicht bekannt.

Die von uns ermittelten Prozentzahlen für die Biceps-femoris Muskulatur des Göttinger Miniaturschweines ergeben mit 15,4 % für Typ-I-Fasern deutlich höhere Werte als bei der von Peter et al. untersuchten weißen Vastus-Muskulatur des Guineaschweines. Im Vergleich zur Biceps-femoris-Muskulatur des Kaninchens ist der Anteil der Typ-I-Fasern bei weiblichen Tieren um 9, bei männlichen Tieren um 17 % höher.

Wie aus den Einzelhistogrammen und Tabelle XV ersichtlich, sind auch beim Göttinger Miniaturschwein die interindividuellen Unterschiede deutlich. Für männliche Tiere ergeben sich für beide Fasertypen Größenunterschiede bis zu 20 μm , bei weiblichen um 10 μm .

Während beim Kaninchen keine deutlichen Unterschiede beim Vergleich der beiden Geschlechter auffallen, findet sich bei männlichen Göttinger Miniaturschweinen ein größerer Anteil an Typ-I-Fasern als bei weiblichen.

Auch bezüglich der Faserdurchmesser sind beim Göttinger-Miniaturschwein geschlechtsspezifische Unterschiede festzustellen.

Wie Tabelle XVI zeigt, liegt bei männlichen Tieren der mittlere Durchmesser der Typ-I-Fasern um 5 μm , der der Typ II-Fasern um 10 μm höher als der der weiblichen Tiere.

Für die Typ I-Fasern liegt bei beiden Gruppen entsprechend den Megahistogrammen das Maximum in der Verteilungskurve in der Größenklasse 40 - 50 μm , wobei bei weiblichen Tieren das Spektrum von 10 bis 90 μm reicht.

Für die Typ II-Fasern ergibt sich ein größerer Unterschied: Hier liegen die Werte der weiblichen GMS um etwa 10 μm unter denen ihrer männlichen Artgenossen. Das Maximum in der Verteilungskurve liegt für die männliche Göttinger Miniaturschweine bei 60 μm , das der weiblichen bei 50 μm , wobei das Faserspektrum von 10 - 140 bei männlichen bzw. 10 - 80 μm bei den weiblichen Tieren reicht. Insgesamt ergibt sich im Megahistogramm der männlichen Göttinger Miniaturschweine eine " Rechtsverschiebung " für die Typ II-Fasern.

Die durchschnittlichen Faserdurchmesser sind bei allen Tieren größer als die Werte beim Kaninchen und erreichen Werte, wie sie beim Menschen ermittelt wurden (Vergl. Tab. XX).

Die Standardabweichung ist wie bei den Kaninchen, besonders für Typ II-Fasern, auffallend hoch (s.Tab. XV u. XVI). Bei männlichen Tieren werden Werte bis 21 für Typ II-Fasern erreicht, was in den Graphiken als vermehrte Kalibervariation und in einer breiten Basis der Verteilungskurve deutlich wird.

Wie bei den beiden Versuchstierspezies finden sich auch beim Menschen deutliche interindividuelle Unterschiede (s. Tab. XVIII und Abb. 42 mit 51).

Suchenwirth und Bundschu (94) kamen 1970 bei Untersuchungen des M.peronaeus von neunzehn muskelgesunden Probanden ebenfalls zu dieser Feststellung und fanden, daß der Fasertyp II im allgemeinen einen größeren Durchmesser als der Fasertyp I aufweist, und dieser Größenunterschied bei trainierten Männern besonders hervorstechend ist.

Bekanntlich können die individuellen Unterschiede der Faserverteilung und-größe unter anderem von Faktoren wie Geschlecht, Alter, Trainingszustand und Muskelart bzw. dessen Funktion beeinflußt werden.

Brooke und Engel (14) haben 1969 histographische Analysen von Muskelbiopsien am Menschen veröffentlicht. Dabei kamen sie bei der Untersuchung der Vastus-late-realis-und der Bicepsmuskulatur zu den in Tabelle XXIII dargestellten Ergebnissen, wobei Typ II-Fasern in die Subtypen II A und II B unterteilt werden. In der selben Tabelle werden auch die Daten, die Tosi und Jerusalem (96) als Beispiel für einen normalen Muskel (M.del-toideus) eines Erwachsenen angeben, aufgenommen.

Tabelle XXIII

		Typ I		Typ II	
		männl.	weibl.	männl.	weibl.
Brooke Engel (14)	Prozentanteil	36	39	64	61
	mittlerer Durchmesser	62	53	69 II A 62 II B	52 II A 62 II B
Tosi Jerusa- lem (96)	Prozent- anteil	42		58	
	mittlerer Durchmesser + SD	48,8 + 6,5		53,3 + 7,6	

Für die uns zur Verfügung stehenden ausgewählten zehn Muskelbiopsien muß nochmals betont werden, daß diese Kontrollgruppe nicht einer gesunden Normalpopulation entspricht. Wegen der in vier Fällen diskreten Veränderung, wurden für diese Kontrollgruppe Variationskoeffizient, Atrophie-u. Hypertrophiefaktor zusätzlich bestimmt (s.Tab. XIX) und mit den von Tosi und Jerusalem angegebenen Kontrollwerten verglichen.

Dannach ist der Variationskoeffizient bis 250 normal. Pathologische Variationskoeffizienten werden in leicht (250 - 350), mittel (350 - 500) und stark (über 500) aufgeteilt. Ein Vergleich mit Tabelle XIX verdeutlicht, daß in keinem Fall unserer Vergleichsgruppe pathologische Werte für den Variationskoeffizienten erreicht werden. Grenzwerte für die Atrophie- und Hypertrophiefaktoren, getrennt nach Geschlecht, Typ I- und Typ II-Fasern werden in Tabelle XXIV angegeben.

Tabelle XXIV

(nach Tosi und Jerusalem (96))

	leicht	mäßig	stark	sehr stark
AF I ♀	100-400	400-750	700-1600	1600
AF I ♂, AF II ♂ HF II ♀	150-450	450-750	750-1650	1650
AF II ♀	200-500	500-800	800-1700	1700
HF I ♀	400-700	700-1000	1000-1900	1900
HF I ♂, HF II ♂	500-800	800-1100	1100-2000	2000
AF I und AF II = Atrophiefaktor von Typ I bzw. II HF I und HF II = Hypertrophiefaktor von Typ I bzw. II Als Ausnahme davon gilt als Grenzwert zwischen Normal und leichter Atrophie für den M.biceps: HF I bei Männern 300.				

Wie ein Vergleich mit Tabelle XIX zeigt, liegen mit Ausnahme von Biopsie-Nr. 73, 98 und 99 sämtliche Werte in dem Normalbereich.

Für Biopsie-Nr. 73 und 98 sind die Werte für den Atrophiefaktor von Typ-I mit 286,4 bzw. 190,8 in die Gruppe "leicht", für die Biopsie-Nr. 99 mit 555,1 in die Gruppe "mäßig" einzustufen. Eindrucksvoll ist besonders für letzteren Fall die gute Übereinstimmung dieses Befundes mit der entsprechenden Graphik

(s. Abb. 49), in der sich ein Maximum der Typ II-Fasern in der Klassenbreite 30 bis 40 μ m darstellt. In allen Fällen stimmt der bei der mikroskopischen Beurteilung erstellte Befund gut mit den erhobenen Daten überein. Die geringen Durchmesseranomalien in den genannten drei Fällen betreffen sämtlich Typ I-Fasern. Die von uns ermittelten durchschnittlichen Faserdurchmesser beider Fasertypen weichen von den Werten, die Brooke und Engel angeben, insofern ab, als sich in der Mehrzahl unserer Fälle niedrigere Werte ergeben (vergl. Tab. XVII, XVIII und XXIII).

Dagegen finden wir eine sehr gute Übereinstimmung unserer Werte mit dem von Tosi und Jerusalem (96) angegebenen Beispiel eines normalen Skelettmuskels (s. Tab. XVIII u. XXIII).

Die prozentuale Verteilung der Fasertypen stimmen mit den Werten sowohl von Brooke und Engel als auch von Tosi und Jerusalem überein. Ein Vergleich dieser Prozentzahlen mit denen vom Kaninchen und GMS ist nicht zulässig, da es sich hier nicht um den M. biceps femoris, sondern vorwiegend um den M. quadriceps femoris handelt, und die Prozentsätze je nach Muskelart erheblich voneinander abweichen, wie dies auch Peter et al. für das Kaninchen und Guinea-schwein zeigen (s. Tab. XXI und XXII).

Wie Brooke und Engel, finden auch wir für die mittleren Durchmesser der Typ I-Fasern von Frauen gleiche bis größere Werte als für Typ II-Fasern. Bei Männern sind Typ II-Fasern deutlich größer als Typ I (vergl. Tab. XVIII u. XXIII). Insgesamt ergeben sich für beide Fasertypen bei Frauen kleinere Faserdurchmesser als bei Männern.

Die Standardabweichung ist in allen Fällen bei Typ II-Fasern größer als bei Typ I-Fasern, erreicht jedoch in keinem Fall Werte wie sie für das Kaninchen und das Göttinger Miniaturschwein gefunden werden (vergl. Tab. XIII und XIV sowie XV, XVI mit XVII und XVIII).

Die geringere Kalibervariation kommt auch in den graphischen Darstellungen in einer relativ schmalen Basis der Verteilungskurve gut zum Ausdruck.

In einer Gegenüberstellung der Summenhistogramme (s. Tab. XX) werden die speziesspezifischen Unterschiede verdeutlicht:

Die für das Göttinger Miniaturschwein ermittelten Daten sind demnach im Vergleich zum Menschen deutlich günstiger als die des Kaninchens.

Während die mittleren Faserdurchmesser der Kaninchenmuskulatur für beide Fasertypen um etwa $10\text{ }\mu\text{m}$ kleiner als beim Menschen sind, findet sich beim Göttinger Miniaturschwein eine gute Übereinstimmung der Daten.

Bei beiden Versuchstierspezies ist eine vermehrte Kalibervariation zu verzeichnen, was rechnerisch in der erhöhten Standardabweichung, optisch im mikroskopischen Übersichtsbild und in den Graphiken als verbreitete Kurvenbasis zum Ausdruck kommt.

Die Befunde zeigen, daß sich das Göttinger Miniaturschwein auch für Zwecke der Muskelforschung sehr gut eignet.

Die für das Göttinger Miniaturschwein erhobenen Daten der normalen Skelettmuskulatur dienen als Vergleichsgrundlage für weitere experimentelle Arbeiten.

VIII. Zusammenfassung

Die Biceps-femoris Muskulatur von zehn Göttinger Miniaturschweinen und zehn Kaninchen sowie die Skelettmuskulatur von zehn muskelgesunden Patienten wurden histologisch histochemisch und unter Einsatz eines MOP-Bildanalysegerätes sowie eines HP-Rechners myometrisch analysiert.

Hierbei fanden sich bei allen drei Spezies normale histologische und histochemische Färbungen bzw. Reaktionen.

Die histometrische Analyse ergab folgende Ergebnisse: Bei Auswertung von insgesamt 19.000 Fasern für alle Präparate ist im Vergleich zur normalen Skelettmuskulatur des Menschen der mittlere Durchmesser der Muskelfasern des Kaninchens für beide Fasertypen deutlich kleiner. Die Daten des Göttinger Miniaturschweines zeigen eine gute Übereinstimmung mit den beim Menschen erhobenen Befunden.

Auffallend ist für beide Tierspezies eine erhöhte Kalibervariation. Dies wird auch in den graphischen Darstellungen und im mikroskopischen Übersichtsbild deutlich.

Während sich für das Kaninchen keine deutlich erkennbaren Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren ergeben, finden sich beim Menschen wie beim Göttinger Miniaturschwein deutliche, vor allem Typ II-Fasern betreffende Geschlechtsunterschiede. Beim Menschen wie beim Göttinger Miniaturschwein liegen die mittleren Durchmesser der Typ II-Fasern der männlichen Individuen um etwa 10 μ m über denen der weiblichen Vergleichsgruppen.

Der Prozentanteil der Typ I-Fasern des M.biceps femoris ist beim Göttinger Miniaturschwein deutlich größer als beim Kaninchen.

Für das GMS werden folgende histologisch-histochemische und myometrische Befunde hervorgehoben:

- 1.) Der Faserquerschnitt ist von polygonaler Form.
- 2.) Intermediärfasern stehen in enger Nachbarschaft, gruppiert um Typ-I-Fasern.
- 3.) der prozentuale Anteil der Typ-I-Fasern des M.biceps femoris als Vertreter eines proximalen Muskels der hinteren Extremität liegt bei etwa 15 %.
- 4.) Der mittlere Durchmesser ($\bar{X}$) der Typ I-Fasern beträgt bei männlichen Tieren $46,5 \pm 14,5 \mu\text{m}$, bei weiblichen Tieren $41,0 \pm 11,0 \mu\text{m}$.
- 5.) Der mittlere Durchmesser ($\bar{X}$) der Typ II-Fasern beträgt bei männlichen GMS $54 \mu\text{m} \pm 20 \mu\text{m}$, bei weiblichen $44,5 \mu\text{m} \pm 15 \mu\text{m}$.

Aufgrund der von uns ermittelten Daten ist das Göttinger Miniaturschwein auch für die vergleichende experimentelle Muskelforschung gut geeignet.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1.) ABD EL-NABI, F.:
Züchtung eines Miniaturschweines als Versuchs-
und Laboratoriumstier
Diss. agr. Fak. Göttingen (1975)
- 2.) AFIFI, A.K., BERGMANN, R.A., HARVEY, J.C.:
Steroid myopathy; clinical, histologic and
cytologic observations.
Johns Hopk. Med. J. 123: 158 (1968)
- 3.) AFIFI, A.K., BERGMANN, R.A.:
Steroid myopathy: a study of the evolution of the
muscle lesion in rabbits.
Bull. Johns Hopk. Med. J. 124. 66 (1969)
- 4.) ASHMORE, C.R., DOERR, L.:
Comparative aspects of muscle fiber types in diffe-
rent species.
Exp. Neurol. 31 : 408 (1971)
- 5.) AWAD, E.A., SWAIMAN, K F., KOTTEK, F.J.:
Changes in the structure, innervation, electromyo-
graphic patterns and enzymes of skeletal muscle
resulting from experimental treatment with triam-
cinolone.
Arch. phys.Med. 46, : 297 (1965)
- 6.) BÄHR, K.H., SCHULZE, W.:
Das Schwein als standardisiertes Versuchstier.
Z.Rheumaforsch. 31 : 99 (1972)
- 7.) BECKER, M., BEGLINGER, R.:
Die vergleichende Betrachtung der Vitalfunktionen
nach Neuroleptika- und Narkosemittel-Applikation
beim Schwein.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 87 : 170 (1974)
- 8.) BEGLINGER, R., BECKER, M., EGGENBERGER, E., LOMBARD, C.:
Das Göttinger Miniaturschwein als Versuchstier.
1. Mitteilung: Literaturübersicht Zucht, Haltung, Kreis-
laufparameter.
Res. exp. Med. 165 : 251 (1975)

- 9.) BENTLAGE, G.E.:
Das Schwein als Versuchstier in der Humanmedizin.
Diss.med.vet. Fak. Hannover(1965)

- 10.) BERG, G., TEICHMANN, K.D., WÖRRLE, G., BERGNER, D., Hahn, H.:
Langfristige parenterale Applikation von Fette-
mulsion beim Zwergschwein.
Z.f. Ernährungswiss. 10 : 1 (1970)

- 11.) BOLAND, E.W., HEADLEY, N.E.:
Management of rheumatoid arthritis with smaller
(maintenance) doses of cortisone acetate.
J.Amer.med.Ass.114 : 365 (1950)

- 12.) BRITT, B.A., LOCHER, W.G. KALOW, W.:
Hereditary aspects of malignant hyperthermia.
Can.Anaesth.Soc. 16 : 89 (1969)

- 13.) BRITT, B.A., KALOW, W.:
Malignant hyperthermia: A statistical review.
Can.Anaesth. Soc. 17 : 293 (1970)

- 14.) BROOKE, M.H., ENGEL, W.K.:
The histographic analysis of human muscle biopsies
with regard to fiber types. 1. Adult male and female.
Neurol. 19 : 221 (1969)

- 15.) BROOKE, M.H., KAISER, K.K.:
Muscle fiber types: How many and what kind?
Arch.Neurol. 23 : 369 (1970)

- 16.) BULLARD, H.H.: Histological as related to physio-
logical and chemical differences in certain muscles
of the cat.
Johns.Hopk.Hosp. 18 : 323 (1919)

- 17.) BULLOCK, G., WHITE, A.M., WORTHINGTON, J.:
The effects of catabolic and anabolic steroids on
amino acid incorporation by skeletal muscle ribosomes.
Biochem.J. 108 : 417 (1968)

- 18.) BUNDSCHU, H.D., SUCHENWIRTH, R.:
Primäre und sekundäre Myopathien aus enzymhistologischer Sicht.
Fortschr.Neurol.Psych. 41, 419 (1973)

- 19.) BURKE, R.E., LEVINE, D.M., ZAJAK, F.E., TSAIRIS, P., ENGEL, W.K.:
Mammalian motor units: physiological-histochemical correlation in three types in cat gastrocnemius.
Science 174, 709 (1971)

- 20.) BUSSE, H.:
Zur Problematik der Züchtung eines kleinen Versuchsschweines für medizinische Zwecke.
Monatshefte Vet.med.21 : 548 (1966)

- 21.) CHERIAN, K.M., BOKDAWALA, F.D., VALLYATHAN, N.V., GEORGE, J.C.:
Effect of denervation on the red and white fibres of the pectoralis muscle of the pigeon.
J.Neurol. Neurosurg.Psych. 29 : 299 (1966)

- 22.) COOPER, C.C., CASSENS, R.G., KASTENSCHMIDT, L.L., BRINSKEY, E.J.:
Histochemical characterization of muscle differentiation.
Develop.Biol. 23 : 169 (1970)

- 23.) CUSHING, H.:
The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism).
Bull. Johns. Hopk.Hosp. 50 : 137 (1932)

- 24.) D'AGOSTINO, A.N.:
An electron microscopic study of cardiac necrosis produced by 9 alpha-fluor-cortisol and sodium phosphate.
Am.J. Path. 45 : 633 (1964)

- 25.) D'AGOSTINO, A.N., CHIGA, M.:
Cortisone myopathy in rabbits. A light and electron microscopic study.
Neurology 16 : 257 (1966)

- 26.) DIECKMANN, K.H.:
Über den Einfluß von Stresnil-JANSSEN, Hyponodil - JANSSEN und Thiogenal-MERCK auf die Herzschlagzahlen bei Ebern während der Kastrationsnarkosen.
Diss.med.vet.FU Berlin (1971)

- 27.) DUBOIS, E.L.:
Triamcinolone in the treatment of systemic lupus erythematosus.
J.A.M.A. 167 : 1590 (1958)
- 28.) DUBOWITZ, V., PEARSE, A.G.E.:
A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle.
Histchemie 2 : 105 (1960)
- 29.) DUBOWITZ, V., BROOKE, M.H.:
Muscle biopsy: a modern approach.
Saunders Comp. Ltd. London Philadelphia-Toronto (1973)
- 30.) EDGERTON, V.R., SIMPSON, D.R.:
The intermediate muscle fiber of rats and guinea pigs.
J. Histochem. Cytochem. 17:828 (1969)
- 31.) EDSTRÖM, L., KUGELBERG, E.:
Histochemical composition, distribution of fibres and fatiguability of single motor units.
J. Neurol. Neurosurg.Psych. 31 : 424 (1968)
- 32.) EIKELENBOOM, G.:
Stress-susceptibility in swine and its relationship with energymetabolism in skeletal musculature.
Research Inst. for Animal Husbandry
" Schoonoord" Zeist; NO-Report B 110 (1972)
- 33.) ELLIS, J.T.: Degeneration and regeneration in the muscles of cortisone-treated rabbits.
Am.J.Phys.Med. 34 : 240 (1955)
- 34.) ELLIS, J.T.:
Necrosis and regenerations of skeletal muscles in cortisone treated rabbits.
Amer.J.Path. 32 : 993 (1956)
- 35.) ELLIS, J.T.:
Studies on the nature and pathogenesis of musculatur degeneration in cortisone-treated rabbits.
N.Y. Path.Soc.The Bull. Page 814 (1956)
- 36.) ENGEL, W.K.:
The essentiality of histo-and cytochemical studies of skeletal muscles of neuromuscular disease.
Neurol. (Minneap.) 12 : 778 (1962)

- 37.) FALUDI, G., MILLS, L.C., CHAYES, Z.W.:
Effects of steroids on muscle.
Acta Endocrin. 45 : 68 (1964)
- 38.) FALUDI, G., GOTTLIEB, J. MEYERS, J.:
Factors influencing the developmet of steroidinduced
myopathies.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 138 : 61 (1966)
- 39.) FREUND-MÖLBERT, E.R.G., JONTOFSON, R., KETELSEN, U.P.
BECKMANN, R.:
Ultrastructural study of experimental cortisol myopathy,
p.p. 497 - 502.
Int.Congr. on Muscle Diseases, Milan (1969)
- 40.) GEIGY:
Documenta Geigy - Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage Basel (1968)
- 41.) GEORGIEVA, R., KOCH, T., GEORGIEV, S.H.:
Die Zucht des Göttinger Miniaturschweines und seine
histologisch-medizinischen Aspekte.
Arch.exp.vet.Med. 27 : 481 (1973)
- 42.) GERMUTH, F.G., NEDEZEL, G.A., OTTINGER, B., OYAMA, J.:
Anatomic and histologic changes in rabbits with experimental
hypersensitivity, treated with compound E and ACTH.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 76 : 177 (1951)
- 43.) GLASER, G.H., STARK, L.:
Excitability in experimental myopathy.
1. Measurement of refractory peroid, quinidine effect;
cortisone myopathy.
Neurology 8 : 640 (1958)
- 44.) GOLDBERG, A.L.:
Proteine turnover in skeletal muscle. II. Effects of dener-
vation and cortisone on proteine catabolism in skeletal muscle.
J.biol.chem. 244 : 3223 (1969)
- 45.) GRUENER, R., STERN, L.Z.:
Effects of corticosteroidson muscle membrane excitability.
Arch. Neurol. (Chicago) 26 : 181 (1972)
- 46.) HAPKE, H.-J., PRIGGE, E.:
Herz-und Kreislaufwirkungen von Azaperon (Stresnil®)
Dtsch. tierärztl. Wschr. 79 : 493 (1972)

- 47.) HARING, F., GRUHN, R., SMIDT, D., SCHEVEN, B.:
Züchtung eines Miniaturschweines als Versuchs- und
Laboratoriumstier.
Zblt. Bakt. 189 : 521 (1963)
- 48.) HARING, F., GRUHN, R., SMIDT, D.:
Bestimmungsgründe für die Entwicklung eines Miniatur-
schweines als Laboratoriumstier.
Word.Rev.Anim. Prod. 3 : 76 (1968)
- 49.) HEENE, R.:
Bedeutung experimentell-histochemischer Befunde für die Patho-
genese von Muskeldystrophien.
Kurze wiss. Mitt. 47 Jg. 7 : 389 (1969)
- 50.) HEENE, R.:
Experimental myopathies and muscular dystrophy.
Studies in formal pathogenesis of 2,4-Dichlorophenoxyacetate.
Springer, Berlin - Heidelberg, New York (1975)
- 51.) HÖRR, H.P.:
Das Schwein als Versuchstier für die Humamendizin - eine
Literaturübersicht.
Diss.med.vet.Fak. Hannover (1973)
- 52.) JAKUBOWSKI, H., LANG, E., ROHLOFF, D., DIECKMANN, K.H.:
Ein Beitrag zur Narkose des Schweines. Registrierung von
Herzschlagzahlen bei Ebern nach Verabreichung von Eunarcon-
CASELLA ± RIEDEL,
Thiogenal - MERCK, Stresnil - JANSSEN und Hypnodil - JANSSEN.
Tierärztl. Wochenschrift 84 : 414 (1971)
- 53.) JAKUBOWSKI, H.:
Neuroleptanalgesie bei DL-Ebern durch ein Azaperon-Metomidat-
Gemisch.
Berl. Münch.Tierärztl.Wschr. 86 : 306 (1973)
- 54.) JANSSEN, W.:
Zur Morphologie und Pathogenese des Corticosteroidschadens.
Frankf.Z.Path. 72 : 462 (1963)
- 55.) JERUSALEM, F., FREUND-MÖLBERT, E.:
Elektronenmikroskopische myopathologische Biopsiefunde bei
Hypercorticismus durch ein ACTH-aktives Lebercarcinom.
Dt.Z.Nervenheilk. 197 : 203 (1970)

- 56.) JERUSALEM, F., BISCHHAUSEN, R.:
Zur Technik der Muskelbiopsie.
Nervenarzt 46 : 42 (1975)
- 57.) KAEMMERER, K.:
Grundlagenuntersuchung an Zwergschweinen.
Z.Versuchstierk. 3 : 157 (1964)
- 58.) KAESER, H.E., KOCHER, R.:
Iatrogene Muskelsymptome und Myopathien.
Therapeut.Umschau 27 : 387 (1970)
- 59.) KAKULAS, B.A.:
Experimental muscle diseases.
Meth.Achiev exp. Pathol. 7 : 109 (1975)
- 60.) KENDALL, E.C.:
Transactions of tenth meeting of Josiah Macy.
Jr.Foundation Page 93 New York (1945)
- 61.) KERPPOLA, W.:
Inhibition of phosphorylase with cortisone and its
activation with adrenalin in the rabbit.
Endocrinology 51 : 192 (1952)
- 62.) KIERFELD, G., MELLIN, P., SCHWALM, E., SCHREIBER, M.:
Die Wirkung von Azathioprin und 6-Methylprednisolon auf
das Wachstum, die Gewichtszunahme, das Blutbild und den
Stoffwechsel jugendlicher Miniaturschweine.
Z.Exper,Chirurgie 5 : 323 (1972)
- 63.) KIERFELD, G., MELLIN, P., BREHMER, P.:
Kidney allotransplantation in miniature pigs.
Urolog.Res. 1 : 88 (1973)
- 64.) LEONARD, S.L.:
The effect of hormones on phosphorylase activity in skeletal
muscles.
Endocrinology 60 : 619 (1957)
- 65.) MARBURG, O.:
Über das basophile Adenom der Hypophyse, die cerebrale Fett-
sucht und die Pseudohypertrophie der Muskeln.
Inst. Wien Univ. 35 : 143 (1933)

- 66.) MARSHALL, M., LYDTIN, H., KRAWIETZ, W., HAGEN, R.,
SCHUCKERT, G., HESS, H., ZÖLLNER, N.:
Das Miniaturschwein als Versuchstier in der experimen-
tellen Medizin.
Res. exp. Med. 157 : 300 (1972)
- 67.) MARSHALL, M., LYDTIN, H., KRAWIETZ, W., SCHUCKERT, G.,
LOHMÖLLER, R., ZÖLLNER, N.:
Erfahrungen mit einer neuen Anaesthetie am Miniaturschwein
Zbl. Vet. Med. 19 : 214 (1972)
- 68.) MITTELBACH, F., PONGRATZ, D.:
Histologische und histochemische Untersuchungen über den
Einfluß von Prednisolonacetat auf den normalen und dener-
vierten Skelettmuskel der Maus.
Virch. Arch. Path. Anat, 343 : 100 (1967)
- 69.) MOODY, W.G., CASSENS, R.G.:
Histochemical differentiation of red and white muscle fibers.
J.Anim.Sci. 27 : 961 (1968)
- 70.) MOSER, H., FIECHTER, R., LUDIN, H.P., JERUSALEM, F.:
Die Steroidmyopathie im Kindesalter.
Z.Kinderheilk. 118 : 177 (1974)
- 71.) MÜLLER, R., KUGELBERG, E.:
Myopathy in Cushing's syndrome.
J.Neurol.Neurosurg.Psych. 22 : 314 (1959)
- 72.) MUSSA, G.C., PAVESIO, D., PAVESIO-MOSSO, L.:
Azione del prednisolone sulla creatinuria e creatininuria
nelle varie età.
Minerva pediat. 15 : 1025 (1963)
- 73.) NEEDHAM, D.M.:
Red and white muscle.
Physiol. Rev. 6 : 1 (1926)
- 74.) NELSON, T.E., JONES, E.W., ANDERSON I.L.:
Animal model of human disease:
Malignant hyperthermia.
Am. Journal of Pathol. 84 : 197 (1976)
- 75.) NICKEL, R., SCHUMMER, A., SEIFERLE, E.:
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.
I. Bewegungsapparat
P. Parey Berlin, Hamburg (1961)

- 76.) PADYKULA, H.A., HERMANN, E.:
The specificity of the histochemical method for
adenosine triphosphatase.
J. Histochem. Cytochem. 3 : 170 (1955)
- 77.) PALMER, B.G.:
The effect of cortisol on body weight and muscle meta-
bolism in the rat.
J. Endocr. 36 : 73 (1966)
- 78.) PETER, J.B., VERHAAG, D.A., WORSFOLD, M.:
Studies of steroid myopathy. Examination of the possible
effect of triamcinolone on mitochondria and sarcotubu-
lar vesicles of rat skeletal muscle.
Biochem. Pharmacol. 19 : 1627 (1970)
- 79.) PETER, J.B., BARNARD, J.R., EDGERTON, V.R., GILLESPIE, C.A.,
STEMPEL, K.E.:
Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle
in guinea pigs and rabbits.
Biochem. 11 : 2627 (1972)
- 80.) PLEASURE, D.E., WALSH, G.O., ENGEL, W.K.:
Atrophy of skeletal muscle in patients with Cushing's
syndrome.
Arch. Neurol. 22 : 118 (1970)
- 81.) PLOTZ, C.M., KNOWLTON, A.J., REGAN, C.:
The natural history of Cushing's syndrome.
Amer. J. Med. 13 : 597 (1952)
- 82.) PONGRATZ, D.:
Differentialdiagnose der Erkrankungen der Skelettmuskula-
tur an Hand von Muskelbiopsien. Enzymhistochemische und
histometrische Untersuchungen zur besonderen Vulnerabilität
der Typ II-Faser.
Thieme Stuttgart (1976)
- 83.) PRABHU, V.G., OESTER, Y.T.:
Electromyographic studies of skeletal muscle of rat given
cortisone.
Arch. Neurol. 24 : 253 (1971)
- 84.) RAMEY, E.R.:
Corticosteroids and skeletal muscle. In Handbook Physiology.
Endocrinology 8 : 245 (1975)

- 85.) RANVIER , M.L.:
Propriétés et structures différentes des muscles rouges
et des muscles blancs chez les lapins et chez les raies.
Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances.
de L'Academie des Sciences (Paris) 77 : 1030 (1873)
- 86.) RITTER, R.A.:
Effect of cortisone on the structure and strength of skeletal muscle. A correlative electron microscopic and isometric tension study.
Arch. Neurol. 17 : 403 (1967)
- 87.) ROMANUL, F.C.A.:
Enzymes in muscle.
I. Histochemical studies of enzymes in individual muscle fibers.
Arch. Neurol. 11 : 355 (1964)
- 88.) ROMANUL, F.C.A., MEULEN, J.P. van der :
Slow and fast muscle after cross innervation.
Arch. Neurol. (Chicago) 17 : 387 (1967)
- 89.) RYAN, W.L., CARVER, M.J.:
Immediate and prolonged effects of hydrocortisone on the free amino acids of rat skeletal muscle.
Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.) 114 : 816 (1963)
- 90.) SEIDENKRANZ, H.G.:
Der Einfluß von Azathioprin auf Fortpflanzungsfunktionen, Chromosomenanomalien, blutbildende Organe und peripheres Blutbild beim Göttinger Miniaturschwein.
Diss.Landw. Fak. Göttingen (1974)
- 91.) SMITH, B.:
Histological and histochemical changes in muscles of rabbits given the corticosteroid triamcinolone.
Neurology (Minneap.) 14 : 857 (1964)
- 92.) STEIN, J.M., PADYKULA, H.A.:
Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat.
Amer.J.Anat. 110 : 103 (1962)
- 93.) STERN, L.Z., GRUENER, R., KIRKPATRICK, J., NEMETH, P.:
The fine structure of cortison-induced myopathy.
Exp. Neurol. 36 : 530 (1972)

- 94.) SUCHENWIRTH, R., BUNDSCHU, H.D.:
Enzymhistologische Befunde an der Skelettmuskulatur
des Menschen. I. Methoden und Ergebnisse bei Normal-
personen.
Klin.Wschr. 48 : 1096 (1970)
- 95.) TICE, L.W., ENGEL, A.G.:
The effects of glucocorticoids on red and white muscles
in the rat.
Am. J. Pathol. 50 : 311 (1967)
- 96.) TOSI, C., JERUSALEM, F.:
Selektive Muskelfasertypomanalien bei neuromuskulären Er-
krankungen.
J. Neurol. 214 : 13 (1976)
- 97.) UNSHELM, J.:
Konstitutionskriterien bei Schweinen verschiedener Rassen.
Habil.-Schrift Landw.Fak. Göttingen 1970
Schriftenreihe des Max-Planck-Institutes für Tier-
zucht und Tierernährung
Treuthorst/Mariensee, Sonderband (1971)
- 98.) WALSH, G., DE VIVO, D., OISON, W.:
Histochemical and ultrastructural changes in rat muscle.
Occurrence following adrenal corticotropic hormone, gluco-
corticoids and starvation.
Arch. Neurol. (Chicago) 24 : 83 (1971)
- 99.) WASSERMANN, U.:
Experimentelle corticosteroidinduzierte Myopathie. Quanti-
tative myometrische Untersuchungen am Skelettmuskel der Maus
unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens der bei-
den histochemisch differenzierbaren Fasertypen.
Diss.med.Fak. München (1974)
- 100.) WIEBE, G.:
Hämatologische Untersuchungen bei vietnamesischen Hänge-
bauchschweinen.
Diss.med.vet. Hannover (1968)
- 101.) WILLIAMS, R.S.:
Triamcinolone myopathy
Lancet 1 : 698 (1959)
- 102.) WROGEMANN, J.:
Untersuchungen zur Blutzusammensetzung bei Göttinger
Miniaturschweinen in Abhängigkeit von Geschlecht, weiblichen

Sexualzyklus, Tageszeit und Entnahmeverfahren.

Diss.Med.Fak. Göttingen (1976)

- 103.) WÜNSCHE, O., SCHEELE, G.:
Hämatologische und biochemische Untersuchungen nach
Druckstoßverletzungen von Zwergschweinen.
Deutsche Luft-u. Raumfahrt (1967)
- 104.) WÜNSCHE, O., SCHEELE, G.:
Druckverlaufmessungen im Tierkörper bei Luftstoßver-
letzungen.
Deutsche Luft-und Raumfahrt (1971)
- 105.) YELLIN, H., GUTH, L.:
The histochemical classification of muscle fibers.
Exp. Neurol. 26 : 424 (1970)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Privatdozent Dr.med.F.Láhoda für die freundliche Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Anregung und die jederzeit freundliche Beratung und Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit herzlich danken.

Herrn Dr.med.K.Boxler schulde ich für die vielen Anregungen, seine überaus große Hilfsbereitschaft und die Unterstützung bei der praktischen Durchführung und bei der Auswertung der erhobenen Befunde ganz besonderen Dank.

Den Herren Dr.Schlotke und Dr. Koch gebührt Dank für ihre Bemühungen bei der Beratung über die Haltung und Pflege unserer Versuchstiere, sowie die vielen wertvollen Hinweise über die Morphologie und Pathologie der Schweinemuskulatur.

Last not least gilt mein Dank und meine Anerkennung Frau Zietsch für ihre Leistung bei der Aufarbeitung des Gewebes und Frl. Schady für die Hilfe bei der Reinschrift dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 29. Oktober 1947 wurde ich als Sohn des Arztes Alfred Thomma und seiner Frau Ingeborg, geb. Pohl in Füssen / Lech geboren.

Meine Einschulung in die Volksschule Schwangau erfolgte 1954. Im Herbst 1960 trat ich in das Deutsche Gymnasium Lauingen ein und wechselte 1962 an das Peter-Dörfler-Gymnasium in Marktoberdorf, wo ich im Juli 1967 das Zeugnis der Reife erwarb.

Im Wintersemester 1967/68 begann ich das Medizinstudium an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dort legte ich nach dem Sommersemester 1968 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Februar 1971 die ärztliche Vorprüfung ab. Im August 1974 bestand ich das medizinische Staatsexamen.

Nach meiner Medizinalassistentenzeit in der Privatklinik Dr. Schlemmer, Bad Wiessee, der chirurgischen Privatklinik Bogenhausen und im Kreiskrankenhaus Erding erhielt ich am 30. September 1975 die Approbation als Arzt.

Seit November 1975 bin ich als Stabsarzt am Bundeswehrkrankenhaus München tätig. Im Mai 1976 erhielt ich zum Zwecke der fachlichen Weiterbildung eine Kommandierung an das Klinikum Großhadern.

Die vorliegende Arbeit begann ich im Oktober 1976 und brachte sie am 30. Sep. 1977 zum Abschluß.

